Lane Medical Library

Zur Kenntnis

der

peptischen Verdauung des Kaseins

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Clara Willdenow

prakt. Arzt

Bern

Buchdruckerei Lack Scheim & Cie

1893

Zur Kenntnis

der

peptischen Verdauung des Kaseins

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Clara Willdenow

prakt. Arzt

Bern

Buchdruckerei Lack Scheim & Cie

1893

Auf Antrag des Herrn Professor *E. Drechsel* von der medizinischen Fakultät zum Druck genehmigt.

Bern, den 15. Februar 1893.

Der Dekan: **Strasser.**

Meinen geliebten Eltern

zum 70. Geburtstage

meines Vaters.

Bei seinen Versuchen über die Verdauung der Eiweisskörper durch Pepsin in salzsaurer Lösung machte G. Meissner[1]) die merkwürdige Beobachtung, dass das Kasein sich dabei anders verhält, als andere Eiweissarten. Während z. B. geronnenes Eieralbumin sich bei der Verdauung völlig auflöst, löst sich das Kasein zwar anfangs auch völlig, aber diese Lösung wird nach und nach gallertig, nimmt unter Umständen sogar die Konsistenz einer dünnen Leimmasse an und scheidet sich dann in eine klare Lösung und einen darin wolkig suspendierten feinflockigen Niederschlag. Meissner nennt denselben Dyspepton und findet seine Menge zu 20 % des angewandten Kaseins; er gibt ferner an, dass der auf dem Filter gesammelte Niederschlag ein seifeähnliches Aussehen hat, in Wasser und Alkohol ganz unlöslich ist und sich auch in mässig konzentrierten Säuren nur schwer löst. Spätere Versuche liessen G. Meissner erkennen, dass auch bei der Pepsinverdauung des Blutfibrins ein «Dyspepton» gebildet wird, sowie dass solche Körper überhaupt bei kräftiger Pepsinwirkung allmählich aus dem zunächst gebildeten Parapepton entstehen.

Das Kaseindyspepton ist dann von Lubavin wieder dargestellt und näher untersucht worden[2]); derselbe findet es aus zwei verschiedenen Substanzen bestehend, von denen die eine stark phosphorhaltig ist und deshalb, sowie ihres ganzen Verhaltens wegen als Nuclein angesprochen worden ist. Diese Auffassung teilt Chittenden nicht, welcher neuerdings das Dyspepton des Kaseins untersuchte und dabei zu einem andern

---

[1]) *Henle* und *Meissner*, Bericht über die Fortschritte der Anatomie und Physiologie im Jahre 1859, pag. 234.

[2]) *Lubavin*, *Hoppe-Seyler*, medizin.-chem. Unters., pag. 463.

Resultate als Lubavin gelangte[1]). Nach ihm enthält das Kaseindyspepton nicht mehr Phosphor, als dem phosphorsauren Kalk seiner Asche entspricht.

Bei der grossen Bedeutung, welche dem Kasein besonders als Nahrungsmittel zukommt, erschien es nicht ohne Interesse, zu entscheiden, ob der als Dyspepton beschriebene Körper ein Nuclein ist oder nicht. Ich habe deshalb auf Anregung und unter Leitung von Prof. Drechsel einige Versuche in dieser Richtung angestellt, deren Ergebnisse in folgendem mitgeteilt werden sollen.

* * *

Es besteht eine offenbare Aehnlichkeit zwischen der Entstehung des Bungeschen Hæmatogens und der Entstehung des Kaseindyspeptons. Da nun nach Altmann das Hæmatogen eine Nucleinsäure ist, so war es mir interessant, zu prüfen, ob das Kaseindyspepton die Eigenschaften einer Altmannschen Nucleinsäure habe.

Die Nucleinsäuren sind nach Altmann[2]) organische Phosphorverbindungen, welche sich durch einen noch höheren Phosphorgehalt auszeichnen, als die Nucleine, deren Spaltungsprodukte sie sind. Altmann fand den Phosphorgehalt reiner Nucleinsäuren bis etwas über 9,5 % im Maximum. Sie stellen getrocknet weisse Pulver dar, welche feuchtes Lakmuspapier intensiv röten, bei unvollständigem Verbrennen eine sich stark blähende Kohle geben und bei vollständigem Verbrennen kaum eine merkbare Asche zurücklassen, wenn durch stärkeres Glühen auch die Phosphorsäure verflüchtigt ist. Die Altmannschen Nucleinsäuren lösen sich wie die Nucleine leicht in alkalischem und ammoniakalischem Wasser, werden jedoch im Gegensatz zu letzteren aus ihrer Lösung durch Uebersäuern mit Essigsäure nicht gefällt, wohl aber durch einen geringen Ueberschuss von Salzsäure und anderen Mineralsäuren,

[1]) *Chittenden*, Studies f. the Laboratory of phys. Chem. Yale University, III. 66.

[2]) *Altmann*, über Nucleinsäuren. Archiv f. Anatomie u. Physiologie. 1889.

besonders unter Zusatz von Alkohol. Durch grossen Ueberschuss der Mineralsäuren tritt, besonders ohne Alkoholzusatz, wieder Lösung und je nach der Stärke der Konzentration und der Dauer der Einwirkung Zersetzung ein. In saurer Lösung fällen dieselben, so lange sie nicht zersetzt sind, Eiweiss stark (am stärksten in salzarmer Lösung bei grossem Ueberschuss von Säure), auch Albuminosen. Diese Fällungen, welche phosphorhaltig, in alkalischem und ammoniakalischem Wasser löslich, durch Essigsäure und Salzsäure fällbar und gegen Pepsin resistent sind, stellen nach Altmann das dar, was man bisher gemeiniglich als Nucleine bezeichnet hat.

Letztere sind nach den bisherigen Kenntnissen organische Phosphorverbindungen von hohem P.-Gehalt, nach Altmann Verbindungen von Nucleinsäure mit Eiweiss. (Die Liebermannsche Ansicht: Nucleine gleich Verbindungen von Eiweiss mit Metaphosphorsäure darf bezüglich der natürlichen Nucleine als widerlegt angesehen werden). Sie sind in kaltem Wasser nicht oder nur sehr schwer löslich, dagegen leicht löslich in verdünnten Alkalien und werden aus ihrer Lösung durch Essigsäure und Salzsäure gefällt. Erhitzt verbrennen sie unter Zurücklassung einer schwer verbrennlichen Kohle, welche an Wasser Metaphosphorsäure abgibt. Durch anhaltendes Kochen werden sie unter Abspaltung von Phosphorsäure zersetzt. Nach Miescher, dem Entdecker der Nucleine, Hoppe-Seyler, Bokay u. a. sind dieselben überhaupt und speziell durch Natronlauge leicht zersetzliche Körper (was übrigens auch für ihre Spaltungsprodukte, die Nucleinsäuren, gilt). Die Nucleine werden durch Magensaft nicht verdaut.

Erste Versuchsreihe.

Das zu verdauende Kasein wurde nach der Methode von Hammarsten dargestellt, welcher ich in Anbetracht des Fettreichtums unserer Berner Milch einige kleine Modifikationen einschaltete.

4 Liter frischer Kuhmilch wurden mit 16 Liter destillierten Wassers verdünnt und darauf mit soviel Essigsäure versetzt,

bis die zugefügte Säuremenge, auf die verdünnte Milch bezogen, 0,075—0,1 % betrug. Das ausgefällte Kasein wurde durch Dekantation mit destilliertem Wasser rasch gewaschen, dann auf Leinwand gesammelt, ausgepresst und portionenweise in einer Reibschale fein zerrieben. Die Hauptmasse der Butter liess sich in folgender einfacher Weise vom Kasein abtrennen: Auf die in ein grosses Becherglas gegebene breiige Masse liess ich aus der Höhe von etwa einem Meter einen kräftigen Strahl destillierten Wassers auffallen. Es schied sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine mit der Hand fast in toto abhebbare Butterschicht ab, während das Kasein sich allmählich als eine weisse, feinflockige Schicht auf dem Boden des Gefässes sammelte. Der Verlust an Kasein ist bei dieser Methode nachweisbar ein kaum nennenswerter. Diese mechanische Abtrennung des Fettes gelingt am besten mit ziemlich kühlem Wasser, aber auch schon bei der lauen Sommertemperatur des letzteren.

Das von der Butter befreite Kasein wurde auf Filtern gesammelt. Es liess sich in grossen Bruchstücken vom Fliesspapier abheben und wurde sodann fein zerrieben und in viel Wasser verteilt durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter (2 %) Natronlauge gelöst, wobei wegen der Empfindlichkeit des Kaseins gegenüber Alkalien sorgfältig beachtet wurde, dass die Lösung schwachsaure bis neutrale, nicht alkalische Reaktion erhielt. Die nach erfolgter Lösung milchähnliche Flüssigkeit wurde durch mehrfache Filter, auf denen noch vorhandenes Fett zurückblieb, filtriert, das nur schwach bläulich-weiss opalisierende Filtrat mit Wasser verdünnt und mit Essigsäure gefällt. Das sich ausscheidende Kasein wurde auf Filtern gesammelt und dann portionenweise wieder so fein als möglich unter Wasser zerrieben. Die ganz feine Partikelchen enthaltende Flüssigkeit wurde filtriert, wobei diejenigen Kaseinkörnchen, die noch dem Zerreiben entgangen waren, auf dem Boden des Gefässes zurückblieben und noch einmal zerrieben wurden. Nach gründlichem Auswaschen wurde das Kasein in derselben Weise noch zweimal behandelt.

Dank der mechanischen Abtrennung des Fettes und dem häufigen und sorgfältigen Filtrieren enthielt das Präparat nunmehr nur noch geringe Mengen an Fett. Da es für meine Versuche nicht darauf ankam, ein völlig fettfreies Kasein zu bekommen, so konnte von der Entfettung mit Alkohol und Aether Abstand genommen werden, was abgesehen von der Zeitersparnis auch in der Hinsicht von Vorteil war, als das Kasein bekanntlich durch die Behandlung mit Alkohol in Säuren (also auch in der Verdauungssalzsäure) schwerer löslich wird. Nach abermaligem sorgfältigem Zerreiben wurde das Kasein wieder mit Natronlauge gelöst und durch Doppelfilter filtriert.

Da es mir darauf ankommen musste, mit einem möglichst reinen Pepsin zu arbeiten, dessen Darstellung zu zeitraubend gewesen wäre, so bediente ich mich bei den folgenden Versuchen der Eigenschaft dieses Fermentes, mit flockigen Niederschlägen, welche in seiner Lösung entstehen, niedergerissen zu werden. Etwaige Verunreinigungen des Pepsins bleiben alsdann in Lösung und können ausgewaschen werden.

Da Chittenden in seinen Kasein-Verdauungspräparaten grosse Mengen phosphorsauren Kalks gefunden, wo es doch leicht ist, Kasein rein darzustellen, so erschien es indiziert, sowohl das anzuwendende (Wittesche) Pepsin, als auch mein Eiweisspräparat vor Beginn des Verdauungsversuches auf etwaigen Kalkgehalt zu prüfen. Oxalsaures Ammon gab in der ammoniakalischen Lösung einer Kaseinprobe auch nicht eine Spur von Niederschlag, so dass das Kasein als kalkfrei angesprochen werden durfte. Beim Erhitzen des Pepsins auf dem Platinblech blieb eine relativ geringe Menge Asche zurück, deren klare Lösung in Salzsäure nach Zusatz von Ammoniumoxalat und essigsaurem Natron sich nur ganz leicht, für das Auge eben noch erkennbar trübte und nach mehrstündigem Abstehen einen geringfügigen, schleierartigen weissen Niederschlag absitzen liess. Es enthält demnach unser Pepsin nur *Spuren* von Kalk.

Ein Probeversuch, ob nicht etwa die Pepsinlösung Kasein aus seiner Lösung ausfälle, ergab folgendes: Es entstanden

nach Zusatz von Pepsinlösung zu dem gelösten Kasein leichte weisse Schleier, welche indes beim Umschütteln sofort wieder verschwanden. Dieser sich schnell wieder lösende Niederschlag dürfte lediglich auf die leicht saure Reaktion der Pepsinlösung zu beziehen sein.

Erster Verdauungsversuch.

Eine filtrierte Lösung von 10 gr. Pepsin in 100 Ccm. aqua dest. wurde mit dem durch Natronlauge gelösten Kasein (aus 4 Liter Milch) unter stetem Umrühren versetzt, wobei die Flüssigkeit trüber und gelblicher wurde, aber ohne undurchsichtig zu werden oder Kasein auszuscheiden. Nun fällte ich das Kasein mit Essigsäure aus: es sammelte sich ein feiner, weisser Niederschlag auf dem Boden des Gefässes; die Flüssigkeit über demselben erschien trüber, als bei den Fällungen von Kasein allein. Der auf einem Filter gesammelte Niederschlag wurde ausgewaschen, bis im Filtrate kein Zucker mehr nachzuweisen war, dann fein zerrieben mit destill. Wasser bis auf 500 Ccm. versetzt. Dieser Flüssigkeitsmenge wurde 2.7 % Salzsäure mittels Bürette tropfenweise und unter stetem Umschütteln so lange zugesetzt bis eine vollständige Lösung des im Wasser suspendierten Kasein-Pepsins erfolgt, da nach einer soeben erschienenen Arbeit von Dr. Müller [1]) das Kasein sich ausserordentlich schwer, bei älteren Präparaten sogar überhaupt nicht löst, wenn man die Salzsäure auf einmal zugibt. Nach Zusatz von 23,6 Ccm. der verdünnten Säure = 0,637 gr. HCl = 0,12 % HCl für die ganze Flüssigkeitsmenge trat vollständige Lösung der Kasein-Partikelchen ein. Ueber Nacht sammelte sich unter einer gelblichen Flüssigkeit ein ganz feiner weissgrauer Niederschlag auf dem Boden des Gefässes an, welcher nach Zusatz von mehr verdünnter Salzsäure bis auf 0,25 % HCl sich nicht mehr löste. Es hatte sich schon bei Zimmertemperatur eine energische Verdauung vollzogen.

[1]) Müller, Zur Kenntnis des Verhaltens von Milch und Kasein zur Salzsäure. Untersuchung aus dem Drechselschen Laboratorium in Leipzig. 1892.

Dieser Befund liefert auch den Beweis, dass das Kasein das Pepsin mit niedergerissen hatte.

Nunmehr wurde das Ganze bei 40° 42 Stunden lang im Brütofen erwärmt. Nach Ablauf dieser Zeit fand man eine ziemlich grosse Menge feinflockiger Substanz ausgeschieden. In Anbetracht der schon bei Zimmertemperatur eingetretenen energischen Verdauung und des noch nachfolgenden 42-stündigen Erwärmens wurde angenommen, dass die Einwirkung der Pepsin-Salzsäure auf diesen Niederschlag vollendet war.

Nach Beendigung des Versuches wurde die Flüssigkeit abfiltriert und der Niederschlag ausgewaschen. Das Filtrat war klar, gelblich gefärbt und tropfte gut ab. Mein Befund entsprach demnach nicht der Angabe Chittendens, dass die saure Flüssigkeit mit so extremer Langsamkeit filtriere, dass er sich zur teilweisen Neutralisation derselben genötigt gesehen habe.

Der Niederschlag — den ich der Uebersicht halber mit A benennen will — stellte eine graulich-weisse kleisterartige Masse dar.

a) Eine Probe desselben wurde auf ihr Verhalten gegen Eiweisskörper in saurer Lösung geprüft. Zu diesem Zwecke löste ich eine kleine Menge des Niederschlags mit wenig kohlensaurem Natron, was schnell und vollständig gelang. (Das Kaseindyspepton löste sich in kaltem Wasser nicht.) Bei Ansäuern mit verdünnter (10 %) Essigsäure entstand in der Lösung ein ziemlich reichlicher, feinflockiger, weisser Niederschlag, der auf einem Filter zurückgehalten wurde. Das wasserklare Filtrat mischte ich mit einer frisch bereiteten Ovalbuminlösung [1]), nachdem die letztere gleichfalls mit Essigsäure angesäuert worden, wodurch ihr klares Aussehen sich nicht veränderte. Es entstand ein sehr reichlicher, fast rein weisser Niederschlag.

---

[1]) Zur Darstellung der Ovalbuminlösung wurde zu Schnee geschlagenes, mit Wasser versetztes Eiweiss durch Behandlung mit Essigsäure bis zur ganz schwach sauren Reaktion von den Globulinen befreit. Das erhaltene Filtrat stellt eine für meine Zwecke durchaus brauchbare Eieralbuminlösung dar.

Um zu prüfen, ob nicht etwa diese Fällung durch die Essigsäure bedingt sei, wurde

β) zu je einem zurückbehaltenen Teil der beiden sauren Lösungen ein Ueberschuss von Essigsäure zugesetzt. Es fiel daraufhin aus der übersäuerten Lösung des « Dyspeptons » ein flockiger, weisser Niederschlag aus, dessen Menge jedoch beträchtlich geringer war, als der bei Versuch *α* erhaltene.

Um jeden Zweifel zu heben, dass der Niederschlag mit Ovalbumin stärker war, stellte ich noch quantitative Versuche an, deren Ergebnisse weiter unten mitgeteilt werden.

γ) Setzte man zu der Lösung einer weiteren Probe von A in kohlensaurem Natron Salzsäure, statt der Essigsäure hinzu, so fiel ein sehr reichlicher, weisser Niederschlag aus. Ich filtrierte von demselben eine klare Flüssigkeit ab, welche nach Zusatz von saurer Ovalbuminlösung keine Fällung entstehen liess. Chittenden, der bei gleicher Behandlung des Kaseindyspeptons (Zusatz von Salzsäure zu der Lösung desselben in kohlensaurem Natron) ebenfalls einen reichlichen Niederschlag erhielt, fand in dem zugehörigen Filtrat nur schwache Spuren eines eiweissartigen Körpers. Es scheint demnach, dass das Dyspepton durch Salzsäure völlig ausgefällt wurde.

δ) Eine kleine Menge des Niederschlages A wurde auf dem Platinblech erhitzt. Sie verbreitete einen Geruch ähnlich dem verbrennender Proteinstoffe, verkohlte und hinterliess eine geringe Menge einer unschmelzbaren Asche, die demnach keine Alkalien enthalten konnte. Mit Soda geschmolzen und in Salpetersäure gelöst, gab dieselbe mit Molybdänlösung einen ziemlich reichlichen gelben Niederschlag.

ε) Der ganze Rest von A wurde in Wasser verteilt mit kohlensaurem Natron gelöst und mit Essigsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Am anderen Morgen reagierte die Flüssigkeit neutral, wahrscheinlich infolge schwachen Ansäuerns und nachträglichen Entweichens von Kohlensäure. Um eine Spaltung des Dyspeptons unter Freiwerden von etwaiger Nucleinsäure zu erzielen, wurde die neutral reagierende Flüssigkeit bis zur deutlichen alkalischen Reaktion mit 2 % Natronlauge versetzt und über Nacht stehen gelassen. Nach Ansäuern mit

Essigsäure gab eine Probe dieser Flüssigkeit nur noch ganz schwache Trübung, keine deutliche Fällung mehr. Ebensowenig entstand nach *starkem* Ansäuern ein Niederschlag.

Es hatte den Anschein, als habe die Substanz eine Zersetzung erfahren, entweder durch die Einwirkung der Natronlauge oder auch des kohlensauren Natrons, welches nicht nur lösend, sondern möglicherweise bei längerer Einwirkung auch zersetzend wirkt. Von den Nucleinen, desgleichen den Nucleinsäuren, ist, wie eingangs dieser Arbeit bemerkt, ihre Empfindlichkeit gegenüber Natronlauge bekannt.

Nach Zusatz eines geringen Ueberschusses von Salzsäure und von Alkohol fiel aus der mit Natronlauge behandelten Flüssigkeit ein ziemlich reichlicher, feinflockiger weisser Niederschlag aus. Eine Probe dieser auf einem Filter gesammelten Fällung wurde nach dem Altmannschen Verfahren in einigen Ccm. Wasser (worin sie sich nicht löste) mit einem Tropfen Ammoniak vollständig gelöst, mit Essigsäure übersäuert (wobei eine grosse Menge eines weissen Niederschlages ausfiel) und filtriert. Das Filtrat, welches deutliche Biuret-Reaktion zeigte, gab mit saurer Ovalbuminlösung keine Fällung; desgleichen trat nach HCl-Zusatz kein Niederschlag mehr auf.

Dieses Ausbleiben von Reaktionen, welche derselbe Körper zuvor deutlich und was die Fällung mit Salzsäure anbelangt, sehr ausgeprägt dargeboten hatte, bestätigt die Annahme, dass unsere Substanz durch die Natronlauge zersetzt worden ist.

* * *

Fassen wir die Resultate dieser ersten Versuchsreihe zusammen, so ergibt sich folgendes:

Der für Pepsin unverdauliche Rückstand des Kaseins löst sich schnell und vollständig in kohlensaurem Natron. Essigsäure, bis zur sauren Reaktion zugesetzt, erzeugt einen Niederschlag und das Filtrat von diesem wird sowohl durch schwach angesäuerte Ovalbuminlösung, als auch durch weiteren Zusatz von Essigsäure gefällt. Desgleichen bewirkt Salzsäure eine sehr reichliche Fällung in der Lösung des Dyspeptons in

kohlensaurem Natron. Die Substanz enthält ziemlich viel Phosphor. Nach dem Verfahren von Altmann lässt sich aus dem Kaseindyspepton kein Körper gewinnen, welcher mit der Nucleinsäure Altmanns ganz identisch wäre, da das erhaltene Produkt aus seiner Lösung in Alkali durch Essigsäure völlig ausgefällt wird.

Diese kleine und noch dazu unvollständige Versuchsreihe gestattet selbstverständlich keinen positiven Schluss: so viel aber geht wohl daraus hervor, dass das Verhalten der Substanz eher für als gegen die nucleinartige Natur des Kaseindyspeptons spricht.

Zweite Versuchsreihe.

Das Kasein wurde wieder aus frischer unabgerahmter Kuhmilch dargestellt. Die diesmal angewandte Methode hielt sich genau an die Angaben Hammarstens.[1])

Das Weglassen der mechanischen Abtrennung der Butter erschwert nicht unbeträchtlich die Lösung des Kaseins in Natronlauge. Auch war das Filtrat des mehrmals mit Natronlauge gelösten Kaseins trübe infolge reichlicheren Gehalts an feinen Fetttröpfchen, was bei der ersten Darstellung nicht der Fall gewesen. Deshalb wurde dieses Kaseinpräparat mit Alkohol und Aether nach Hammarsten entfettet. Das von Alkohol und Aether wieder befreite, an der Luft getrocknete Kasein wurde zunächst auf seine Löslichkeit mit Natronlauge geprüft. Es löste sich gut zu einer klaren, durchsichtigen Flüssigkeit.

Zweiter Verdauungsversuch.

50 gr. dieses lufttrockenen Kaseins wurden in ca. 1½ Liter destillierten Wassers durch allmählichen Zusatz von 2 % Natronlauge gelöst. Die Lösung reagierte schwach sauer bis neutral, nicht alkalisch. Sie wurde filtriert und mit einer klaren Lösung

[1]) *Hammarsten,* Mitteil. an die königl. Gesellschaft der Wissenschaft zu Upsala 1877.

von 10 gr. Pepsinum Witte[1]) in 100 Ccm. Wasser unter stetem Umrühren versetzt.

Die Flüssigkeit wurde nach dem Pepsinzusatz sehr wenig trüber, gelblicher, blieb aber durchsichtig. Keine Spur von Niederschlag. Nach Ausfällung mit Essigsäure wurde der Niederschlag auf dem Filter zuckerfrei gewaschen. Die nach Zerreiben desselben unter Wasser Emulsion-ähnliche Flüssigkeit wurde auf 500 Ccm. aufgefüllt und mit 2,7 % Salzsäure tropfenweise bis zur vollständigen Lösung versetzt. Das Kasein löste sich diesmal — wahrscheinlich infolge der energischen Alkoholbehandlung — erst nach Zusatz von 43 Ccm. 2,7 % Salzsäure = 1,16 gr. HCl. = 0,23 % HCl. für die ganze Flüssigkeitsmenge. Die sehr feinen Partikelchen umgaben sich mit einer gallertigen Hülle, welche dem Eindringen der Salzsäure ins Innere offenbar Widerstand leistete. Die Lösung war opalisierend, durchsichtig und färbte Kongopapier schwach schmutzigviolett. Der Salzsäurezusatz wurde bis auf 0,25 % kompletiert.

Am andern Morgen war die bei Zimmertemperatur aufbewahrte Salzsäure-Pepsin-Kaseinlösung zu einer bläulich-gelblichen Gallerte erstarrt, die beim Neigen des Becherglases am Rande brüchig wurde und nur eine Spur von Flüssigkeit erkennen liess. Der grösste Teil der Gallerte ging als ein zusammenhängendes Ganzes in einen Ballon über. Der Inhalt des verstöpselten Ballons wurde 24 Stunden lang bei 35—40° erwärmt. Nach Ablauf dieser Zeit erschien die Gallerte brüchig zerfallend. Beim Schütteln des Glases zerfiel sein Inhalt in lauter kleine, stecknadelkopf- bis linsengrosse gallertige Klümpchen von grauweisser Farbe, die in einer gelblichen Flüssigkeit suspendiert waren.

Die von dem erhaltenen Niederschlage abfiltrierte klare Flüssigkeit reagierte sauer und gab eine sehr ausgeprägte Biuret-Reaktion, mit kohlensaurem Natron keinen Niederschlag, desgleichen nicht mit Salpetersäure. Dagegen entstand nach

[1]) Die schon erwähnte Probe, ob die Pepsinlösung nicht etwa das Kasein aus seiner Lösung ausfälle, war wiederholt worden und hatte das früher geschilderte Resultat ergeben.

Sättigung mit Kochsalz auch ohne Salpetersäurezusatz eine ziemlich reichliche, weisse, flockige Fällung.

Der ausgewaschene Niederschlag präsentierte sich als eine gelbbräunliche, gallertartige Masse. Sie wurde in zwei Teile geteilt.

Teil A wurde nach Altmannschem Verfahren in 200 Ccm. Wasser fein verteilt, mit Hülfe von wenig Ammoniak gelöst und mit Essigsäure übersäuert. Es entstand ein Niederschlag, der sich auf dem Filter als eine schmutzig-bräunlichweisse Masse präsentierte. Das zugehörige Filtrat will ich der Uebersichtlichkeit halber mit *α* benennen.

Teil B des gallertartigen Niederschlages wurde einer Nachverdauung unterworfen und zu dem Behufe in 300 Ccm. Wasser mit verdünnter Salzsäure bis zu 0,3 % HCl. versetzt und mit einer Lösung von 5 gr. Pepsin in 50 Ccm. Wasser vermischt, wodurch keine Lösung eintrat.

Teil A.

I. Eine Probe des Filtrates *α* wurde mit frisch hergestellter, saurer Ovalbuminlösung versetzt. Dabei trat zunächst keine Fällung ein; auf Zusatz von mehr Essigsäure fiel indes ein reichlicher, weisser, flockiger Niederschlag aus. Essigsäure allein bewirkte auch eine Fällung, doch war dieselbe anscheinend geringer, als wenn Ovalbumin zugegeben wurde.

Zur weiteren Kontrolle wurde zu einer Probe von *α* Essigsäure hinzugefügt und die von dem entstandenen Niederschlag abfiltrierte klare Flüssigkeit zu einer Hälfte (a) abermals mit Essigsäure, zur anderen (b) mit der (weniger sauren) Ovalbuminlösung versetzt. In *a* fiel noch eine kleine Menge weissen Niederschlages aus, in *b* dagegen entstand eine erheblich voluminösere Fällung, so dass dieser Versuch beweist, dass unsere Substanz in stärker saurer Lösung Eiweiss fällt.

II. Versetzte man eine Probe des Filtrates *α* mit einem gleichen Volumen Alkohol, so fiel ein reichlicher bräunlicher Niederschlag aus; das Filtrat war wasserklar. Ein kleiner Teil desselben wurde aufbewahrt und liess nach längerem Ab-

stehen eine geringe Menge Niederschlages ausfallen; nach abermaligem Filtrieren war die Flüssigkeit wasserklar, wie zuvor, schied aber allmählich wieder eine Spur flockiger Substanz aus. Der grössere Teil des zu dem Alkohol-Niederschlag zugehörigen Filtrates wurde dagegen sofort mit etwa 3 pro mille Salzsäure behandelt, woraufhin ein sehr reichlicher, fast rein weisser Niederschlag ausfiel.

III. Der Hauptteil des Filtrates *α* wurde wie Probe II behandelt, d. h. mit einem gleichen Volumen Alkohol versetzt und der entstandene, sehr voluminöse flockige bräunliche Niederschlag durch Filtration von dem wasserklaren Filtrate abgetrennt. Letzteres konnte nicht sofort mit Salzsäure behandelt werden. Am anderen Morgen fand man in dem Filtrate einen Niederschlag von nicht geringer Menge und von gleichem Charakter wie die unmittelbar nach Alkohol-Zusatz erhaltene Fällung. Nach erneutem Filtrieren war die Flüssigkeit wieder wasserklar. Die eine Hälfte derselben wurde sofort mit Salzsäure tropfenweise versetzt, die andere erst nach weiterem 7-stündigem Abstehen (nach welcher Zeit das Filtrat noch ganz klar erschien) in gleicher Weise behandelt.

In dem sofort mit HCl. (3 pro mille) versetzten Teil dieses Filtrates entstand eine reichliche, fast rein weisse Fällung, deren Menge jedoch relativ geringer war, als die Menge des in Probe II enthaltenen Niederschlages. Dieses Minderresultat ist auf die Leichtzersetzlichkeit meines Präparates zu beziehen, dessen Hauptteil weniger schnell verarbeitet wurde, als die früher entnommene Probe. Für eine solche Leichtzersetzlichkeit sprechen ausser den früher erwähnten noch eine Reihe von Erfahrungen, welche ich im Verlaufe meiner Untersuchungen an meinen Präparaten machte. Ueberall sah ich den Ausfall von Reaktionen (speziell die Fällung mit Salzsäure), von der Schnelligkeit, beziehungsweise Langsamkeit beeinflusst, mit welcher gearbeitet wurde.

Aus dem nach 7-stündigem Abstehen mit Salzsäure (5 pro mille) behandelten Teil des Filtrates fiel ein wolkiger, weisser Niederschlag aus von anscheinend verhältnismässig geringerer Menge, als der in dem sofort mit Salzsäure versetzten Filtratanteil entstandene.

Beide Niederschläge wurden auf ein und demselben Filter gesammelt — das Filtrat gab noch schwache Biuret-Reaktion — und mit 50 % Alkohol, Alkohol absolutus und Aether ausgewaschen, verrieben und schliesslich über Schwefelsäure in vacuo von noch vorhandenem Aether und von Feuchtigkeit befreit.

Die getrocknete Substanz — welche ich N_1 nennen will — stellte ein weisses amorphes Pulver dar.

Eine Probe derselben wurde mit etwas Soda und Salpeter auf dem Platinblech geschmolzen, die völlig weisse Schmelze in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit Molybdän-Lösung versetzt. Es entstand ein sehr reichlicher gelber Niederschlag. Das Präparat enthält demnach viel Phosphor.

Eine gleiche Menge der getrockneten Substanz, wie zum vorigen Versuche, wurde zur Prüfung auf phosphorsauren Kalk auf dem Platinblech erhitzt. Sie verbreitete einen Geruch ähnlich dem verbrennender Proteinstoffe, gab bei unvollständigem Verbrennen eine sich stark blähende Kohle und verbrannte äusserst langsam vollständig. Es hinterblieb ein kaum sichtbarer, unschmelzbarer Rückstand. Das auffällige Missverhältnis zwischen dieser minimen Spur von Asche und dem sehr reichlichen Niederschlag von phosphor-molybdänsaurem Ammoniak spricht nicht dafür, dass der Phosphor lediglich in der Form von phosphorsaurem Kalk in der Substanz enthalten ist.

Die Hauptmenge des Präparates N_1 wurde in zwei Portionen geteilt. Die eine (= Probe I) wurde in 10 Ccm. Wasser mit Hilfe von wenig verdünntem Ammoniak gelöst. Das Filtrat wurde mit Essigsäure stärker übersäuert (wobei es klar blieb) und mit saurer Ovalbuminlösung versetzt, woraufhin ein reichlicher, weisser Niederschlag ausfiel.

Die zweite Portion (Probe II) der phosphorhaltigen Substanz wurde wie Probe I behandelt, mit dem Unterschiede, dass noch ein grösserer Ueberschuss an Essigsäure und *keine* Ovalbuminlösung zugegeben wurde. Nach längerem Abstehen hatte sich eine ganz minime Menge Niederschlages abgesetzt.

Um festzustellen, ob in Probe I (=stärker übersäuertem Filtrat und saurer Ovalbuminlösung) alles ausgefällt, wurde $^1/_3$ von Probe I mit $^1/_2$ Probe II vermischt (=Probe III). Dieser Versuch ergab kein eindeutiges Resultat.

Das unzweifelhafte und beträchtliche plus an Niederschlag in der ovalbuminhaltigen Flüssigkeit beweist, dass unser Filtrat Eiweiss fällende Eigenschaften besitzt.

Alle drei Proben, desgleichen die Ovalbuminlösung wurden filtriert. Aus dem Filtrat von Probe I fiel allmählich noch ein nicht ganz unbeträchtlicher Niederschlag aus, ganz geringe Mengen einer Fällung auch aus der filtrierten Mischung von I und II. Das Filtrat von II stellte dagegen eine klare Flüssigkeit dar, auf deren Grund sich eine bei minutiöser Prüfung eben noch erkennbare Spur von Niederschlag abgesetzt hatte.

Nach Zusatz gleicher Mengen von Ovalbuminlösung schien in I keine Fällungsvermehrung aufzutreten, so dass ich annehmen durfte, dass in dieser Flüssigkeit alles ausgefällt worden sei, während Mischung von I und II ein plus an Niederschlag aufwies und aus der vorher klaren Probe II ein Niederschlag ausfiel, der an Menge der früher mit Ovalbumin erhaltenen Fällung (Probe I) mindestens gleichkam, vielleicht noch reichlicher war.

Dieser Versuch beweist mit völliger Sicherheit, dass unsere Substanz in stark essigsaurer Lösung Ovalbumin zu fällen im Stande ist und dürfte als ein Hinweis darauf aufgefasst werden können, dass wir es mit Nucleinsäure zu thun haben. Die Fällungen, welche nach Altmann als Verbindungen von Nucleinsäure mit Eiweiss-Nuclein anzusehen sein würden, fallen alle sehr langsam aus. Wenn auch sofort nach Ovalbuminzusatz eine Reaktion erkennbar war, so bedurfte es doch längerer Zeit, bis eine reichliche und vollständigere Ausfällung zu Stande kam.

Eine weitere Prüfung dieser Fällungen ergab: sie sind in kaltem Wasser nicht löslich, dagegen in alkalischem und ammoniakalischem Wasser leicht löslich, werden aus dieser Lösung durch Uebersäuern mit Essigsäure so gut wie nicht gefällt (kaum erkennbare Spuren eines Niederschlages, der noch am deutlich-

sten nach grossem Ueberschuss an Essigsäure und Kochsalz), wohl aber durch einen geringen Ueberschuss an Salzsäure. Auf nachträglichen Zusatz von Salzsäure in geringem Ueberschuss zu einer Essigsäure in grossem Ueberschuss enthaltenden Lösung fällt nach einiger Zeit noch ein ziemlich reichlicher weisser Niederschlag aus, welcher aber nicht so voluminös ist, wie die bei direkter Behandlung mit HCl. erhaltene Fällung.

Eine kurze Zusammenfassung meiner bisherigen Befunde ergibt:

Präparat N_1 enthält viel Phosphor, gibt bei unvollständigem Verbrennen eine sich stark blähende Kohle und verbrennt äusserst langsam vollständig unter Hinterlassung einer kaum merkbaren Spur von Asche. Präparat N_1 löst sich nicht in kaltem, destilliertem, dagegen leicht in ammoniakalischem Wasser, desgleichen in kohlensaurem Natron, wird aus der ammoniakalischen Lösung durch Ueberschuss von Essigsäure nicht gefällt; bei sehr grossem Ueberschuss von Essigsäure entsteht eine ganz minime Menge Niederschlags. Präparat N_1 fällt in saurer Lösung Eiweiss ziemlich stark.

Dieses Verhalten entspricht durchaus den von Altmann geschilderten Eigenschaften der Nucleinsäure, so dass ich berechtigt zu sein glaube, das Präparat N_1 als Nucleinsäure anzusprechen.

Was nun die mit Eiweiss erhaltenen Fällungen anbelangt, so zeigen sie insofern nicht ganz das von Altmann beschriebene Verhalten der Nucleine, als sie nach Lösung in Ammoniak, resp. Alkali mit Essigsäure nur eine Trübung gaben. Ich bin trotzdem geneigt, sie für Nucleine zu halten. Denn die Nucleine verschiedener Herkunft können ja sehr wohl gewisse Abweichungen in ihren chemischen Eigenschaften zeigen; eine Reihe vorliegender Untersuchungen machen es sogar wahrscheinlich, dass sie überhaupt untereinander nicht ganz identisch sind. Wenigstens haben analytische Bestimmungen der Nuclein-Verbindungen, welche man aus der Kernsubstanz, aus den roten Blutkörperchen des Gänseblutes, aus den Korngebilden des Eidotters, aus Hefe und Eiter etc. gewonnen hat, bisher sehr verschiedene quantitative Zusammensetzung für

das Nuclein ergeben. Miescher ist demnach der Ansicht, dass es nicht *ein* Nuclein, sondern eine *ganze Gruppe* von Nucleinen gibt, und Hoppe-Seyler macht bekanntlich drei Hauptkategorien dieser Körper namhaft:

1) solche, welche beim Kochen mit Wasser oder verdünnten Säuren Eiweissstoffe, Hypoxanthin und Phosphorsäure,

2) solche, welche bei derselben Behandlung nur Eiweissstoffe und Phosphorsäure und

3) endlich solche, welche bei gleicher Behandlung nur Hypoxanthin und Phosphorsäure liefern.

Allen drei Gruppen gemeinsam ist also nur die Bildung der Phosphorsäure; was die anderen Produkte anbelangt, so ist es nach Drechsel[1]) wohl möglich, dass ausser den genannten, noch andere, bis jetzt unbekannte entstehen, wie denn z. B. anstatt Hypoxanthin richtiger Xanthinkörper zu setzen wäre, da Kossel ausser dem Hypoxanthin auch noch Xanthin, Guanin und Adenin gefunden hat.

Undenkbar ist übrigens auch nicht, dass das Alkali (resp. das Ammoniak), wenn auch in geringen Mengen angewandt — ich prüfte auch sehr geringe Mengen Substanz, so dass die Gefahr, einen Ueberschuss des Alkalis zuzusetzen, sehr gross war — eine Zersetzung des Nucleins unter Freiwerden von Nucleinsäure bewirkt hat. Eine solche Annahme würde eine Erklärung abgeben für die Mittelstellung unserer Fällungen zwischen den Altmannschen Nucleinsäuren und den Nucleinen in ihrem Verhalten gegenüber Essigsäure nach erfolgter Lösung derselben in alkalischem oder ammoniakalischem Wasser. Die erwähnte minime Menge von Niederschlag nach Zusatz von Essigsäure namentlich im Ueberschuss würde dann nämlich als eine Reaktion auf noch vorhandene kleine Mengen *nicht* zersetzten Nucleins verständlich sein.

Der aus der ammoniakalischen Lösung des Kaseindyspeptons nach Uebersäuern mit Essigsäure ausgefallene gesammelte Niederschlag war inzwischen gleich wie die Muttersubstanz A

---

[1]) *Drechsel:* Nucleine, Handwörterbuch d. Chemie v. Ladenburg, pag. 275 u. folg. Seiten.

nach Altmann behandelt worden. Nach — schwachem — Uebersäuern mit Essigsäure fiel eine geringe Menge weissen Niederschlages aus. Ein klares Filtrat war nicht zu erhalten. Ich versetzte darauf mit dem gleichen Volumen Alkohol, worauf-hin ein reichlicher Niederschlag von gleicher Beschaffenheit wie bei den früheren analogen Versuchen mit α ausfiel. Die abfiltrierte klare Flüssigkeit (Filtrat β) wurde in zwei Hälften geteilt.

Die eine Hälfte wurde sofort mit etwa 3 pro Mille Salzsäure versetzt. Es fiel daraufhin ein noch ziemlich reichlicher, fast rein weisser Niederschlag aus.

Die andere Hälfte des Filtrates β wies nach mehr als 12-stündigem Abstehen eine eben erkennbare Spur von weissem Niederschlag auf; die darüberstehende Flüssigkeit erschien wasserklar. Nach Zusatz von Salzsäure in geringem Ueberschuss entstand eine noch ziemlich reichliche Fällung. Durch grösseren Ueberschuss von Salzsäure trat wieder Lösung des entstandenen Niederschlags ein.

Beide mit Salzsäure erhaltenen Fällungen wurden durch Centrifugieren gesammelt, mit Alkohol und Aether ausgewaschen und über Schwefelsäure in vacuo getrocknet. Die schliesslich gewonnene Menge an Substanz war jedoch gering und wurde aus diesem Grunde nicht quantitativ analysiert. Das ganze Verhalten des untersuchten Niederschlages macht es jedoch wahrscheinlich, dass ich es auch hier mit einem nucleinartigen Körper zu thun hatte.

Teil B.

Nach 38-stündiger Nachverdauung bei der konstanten Temperatur von 40° schien die Menge der in gelblicher Flüssigkeit suspendierten gallertigen Partikelchen sich nicht viel verändert zu haben.

Das Produkt dieser prolongierten (im ganzen 62-stündigen) Verdauung wurde filtriert und der Niederschlag auf dem Filter ausgewaschen. Das klare, gelbliche Filtrat reagierte sauer, gab noch sehr deutliche Biuret-Reaktion, keinen Niederschlag mit kohlensaurem Natron, desgleichen nicht mit Salpetersäure.

Nach Sättigung mit Kochsalz entstand auch ohne Zusatz von Salpetersäure ein weisser Niederschlag.

Die auf dem Filter gesammelte Gallerte wurde wie Teil A in 200 Ccm. Wasser mit Hilfe von wenig Ammoniak gelöst, mit Essigsäure (schwach) übersäuert und das Filtrat des entstandenen Niederschlages mit einem gleichen Volumen Alkohol versetzt. Es entstand ein reichlicher bräunlicher Niederschlag; das Filtrat war wasserklar und liess auf Zusatz von bis 5 pro Mille Salzsäure sehr langsam eine relativ sehr geringe Menge fast rein weissen Niederschlages ausfallen. Bei gleicher Behandlung von Teil A desselben Kaseindyspeptons hatte ich einen überaus reichlichen Niederschlag erhalten. Das diesmalige Minderresultat ist wahrscheinlich bedingt durch die Einwirkung des Alkohols, unter welcher das — langsamer verarbeitete — Präparat aus Teil B lange gestanden hatte. Von der Muttersubstanz des Präparates, dem Kasein, hat bekanntlich Hammarsten nachgewiesen, dass dasselbe durch Erhitzen mit Alkohol verändert wird; bei der Leichtzersetzlichkeit unserer Substanz könnte eine Alteration derselben durch Alkohol wohl auch schon in der Kälte stattgehabt haben.

Die mit Salzsäure erhaltene Fällung wurde auf dem Filter gesammelt — das Filtrat gab noch schwache Biuret-Reaktion — und mit 50 % Alkohol, Alkohol absol. und Aether ausgewaschen. Die schliesslich erhaltene Menge an Substanz war zu gering für eine weitere Bearbeitung derselben.

Der vorerwähnte bräunliche Niederschlag (= Alkohol-Fällung) wurde nach Abzug einer kleinen zur Kontrolluntersuchung auf Phosphorsäure zurückbehaltenen Probe eine Zeit lang mit Wasser gekocht, um zu sehen, ob sich dabei Phosphorsäure abspalten liesse. Die Absorption von Flammengasen, welche eine saure Reaktion vortäuschen könnten, wurde dabei durch Herstellung eines kräftigen Luftzuges vermieden. Nach 7-stündigem Kochen hatte sich die Menge des bräunlichen Niederschlages deutlich vermindert, so dass anzunehmen war, dass ein Teil desselben sich im Wasser gelöst habe. Letzteres reagierte ziemlich stark sauer. Leider wurde dieser Versuch durch einen Unfall unterbrochen.

Die zur Kontrollprüfung zurückbehaltene Probe *(a)* des bräunlichen Niederschlags wurde in wenig Ammoniak gelöst und dann zur Prüfung auf Phosphorsäure mit ammoniakal. Magnesia-Lösung versetzt. Die ausfallende eben erkennbare Spur von weissem Niederschlag ergab bei mikroskopischer Untersuchung keinen sicheren Befund an Tripelphosphat.

Gleichzeitig wurde *b)* eine nach 2½-stündigem Kochen des Niederschlages entnommene Flüssigkeitsprobe und *c)* eine Lösung von Kasein in Ammoniak-Wasser in gleicher Weise mit ammoniakal. Magnesialösung behandelt. Probe *b* wies eine minime Fällung auf, die unter dem Mikroskop nur undeutliche körnige Massen, kein Tripelphosphat erkennen liess. In der Kaseinlösung *(c)* dagegen entstand ein reichlicher, weisser, amorph erscheinender Niederschlag, in welchem mikroskopisch auch kein Tripelphosphat nachgewiesen werden konnte.

Die entstandenen Niederschläge wurden abfiltriert. An den Wandungen der drei Reagensgläser blieben eine grössere Zahl feiner, körnig erscheinender Partikelchen haften. Zur nochmaligen Prüfung auf Phosphorsäure spülte ich die in Probe *a* und *b* befindlichen «Körnchen» mit einer Lösung von Ammoniummolybdat in Salpetersäure ab. In *b* entstand daraufhin kein Niederschlag; in *a* dagegen sah man an der Wand des Glases leichte gelbe Schleier. Die in *c* (= Kaseinlösung) zurückgebliebenen Partikelchen lösten sich in einer Mischung von Salmiak und Ammoniak zu gleichen Teilen. Allmählich sammelten sich auf dem Boden des Reagensglases mit der Loupe deutlich erkennbare Kryställchen an, die mit ammoniakalischem Wasser abgespült wurden. Die Ammoniummolybdat-Probe ergab eine kleine Menge gelben pulverigen Niederschlages. Die Lösung desselben in Ammoniak wurde eingedampft und der Rückstand mit einem Tropfen Ammoniak versetzt. Er löste sich darin fast farblos und liess nach Zusatz von Salpetersäure eine geringe Menge gelben Niederschlages ausfallen.

Es wurde demnach im Kasein eine *Spur* von Phosphorsäure nachgewiesen. Nach der geringen Menge des erhaltenen Niederschlages musste ich annehmen, dass die Hauptmasse

des Phosphors noch in einer anderen Verbindung als zu Phosphorsäure, resp. phosphorsauren Salzen im Kasein enthalten sei, da ja den 0,88 % P des Kaseins 2,8 % PO_4 H_3 und 6,95 % Mg (NH_4) PO_4 + 6 H_2 O entsprechen, mithin — was aber nicht zutraf — ein ganz reichlicher Niederschlag von Tripelphosphat entstehen müsste, wenn der im Kasein enthaltene Phosphor lediglich in der Form von Phosphorsäure, resp. phosphorsauren Salzen vorhanden sein sollte.

Der obige Untersuchungsbefund aber wurde belanglos für die Frage, ob der Phosphor lediglich als phosphorsaure Salze oder vorwiegend in organischer Verbindung im Kasein enthalten sei, als ich auf die Thatsache stiess, dass das Kasein die Ausfällung der Phosphorsäure in der Form von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia hindert. Ich machte nämlich folgenden Versuch:

Eine kleine Menge Kaseins wurde in ammoniakalischem Wasser gelöst und mit etwas phosphorsaurem Natron versetzt. Nach Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung fiel ein weisser, zum grössten Teile *feinflockiger*, zum Teil aber auch *krystallinischer* Niederschlag aus, der sich nur sehr allmählich und unvollständig in Ammoniak und Salmiak zu gleichen Teilen löste. Unter dem Mikroskop präsentierte sich der krystallinische Anteil des Niederschlages als Kugeln, die Aehnlichkeit mit den Sphärokrystallen der Kartoffeln, Dahlien etc. darboten. Die gelatinösen Flöckchen stellten schollige Gebilde dar. Am anderen Morgen zeigte das Mikroskop eine erhebliche Zunahme dieses krystallinischen Niederschlags. *Von Tripelphosphat jedoch war bei wiederholter Untersuchung auch nicht eine Spur wahrzunehmen.*

Leider war es mir bei der Beschränkung, die ich mir in meiner Zeiteinteilung auferlegen musste, nicht vergönnt, die Natur dieses interessanten Niederschlages aufzuklären. Ich spreche daher lediglich eine Vermutung aus, wenn ich andeute, es könne sich hier um eine Verbindung von Kasein mit Tripelphosphat handeln. Es würde sich lohnen, nach dieser Richtung hin weitere Untersuchungen anzustellen.

Dritte Versuchsreihe.

200 gr. trockenen, « fettfreien » Kaseins[1]) wurden wie bei den früheren Versuchen und mit denselben Kautelen mittels Natronlauge gelöst, mit einer Lösung von 40 gr. Pepsin versetzt und dann mit Essigsäure ausgefällt. Die Fällung wurde auf dem Filter zuckerfrei gewaschen und mit Wasser verrieben. Das in 3 Liter Flüssigkeit fein verteilte Kasein-Pepsin wurde mit Salzsäure vollständig gelöst (Zusatz von 200 Ccm. 2,7 % Säure). Die opalisierende, durchsichtige Flüssigkeit wurde filtriert und mit Salzsäure weiter versetzt, bis das Filtrat 0,32 % HCl. enthielt.

Diese pepsinhaltige Kaseinlösung wurde 5 Tage lang, im ganzen 112 Stunden, im Brutofen auf 38—40° erwärmt. Dabei entstand ein Niederschlag, dessen Menge in den letzten Tagen konstant blieb. Am Schlusse des Versuchs bestand das Verdauungsprodukt aus einem weissgrauen sehr lockeren Niederschlag, der gut $^2/_5$ von dem Volumen der ganzen Masse ausmachte und aus fast klarer, gelbgrünlicher Flüssigkeit.

Dieses Resultat 112-stündiger Verdauung entsprach genau der Beschreibung, welche Lubavin in seiner Abhandlung (4. Versuch[2]) von seinem Verdauungsprodukte gibt. Ich verfuhr in der Folge analog dem 4. Lubavinschen Versuche: Zunächst wurde die Flüssigkeit von dem Niederschlage abfiltriert. Das Filtrat war vollkommen klar, von etwas gelbgrünlicher Färbung, reagierte sauer, gab sehr ausgeprägte Biuret-Reaktion und mit Salpetersäure einen gelben Niederschlag geringer Menge, welcher nach Zusatz von Kochsalz sehr reichlich wurde.

Der oben erwähnte Niederschlag wurde ausgewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit nicht mehr die oben genannten Reaktionen zeigte. Zu dem Behufe wurde er zwei bis drei Mal vom

[1]) Aus der Fabrik von Trommsdorff in Erfurt, deren mit besonderer Sorgfalt hergestelltes Präparat der Zeitersparnis halber verarbeitet wurde. Bei achttägiger Extraktion mit Aether (Drechsel und Abel) fanden sich nur *sehr geringe Spuren* von Fett, so dass dieses Kasein praktisch für « fettfrei » gelten kann.

[2]) Hoppe-Seyler, Medizinisch-chemische Untersuchungen, pag. 475 und folgende Seiten.

Fliesspapier genommen und in Wasser verteilt. Er präsentierte sich auf dem Filter als eine voluminöse, graue, kleisterartige Masse [1]), von der etwa die Hälfte (Teil A) weiter nach Lubavin, Teil B dagegen nach dem Altmannschen Verfahren behandelt wurde.

Teil A

wurde in Wasser fein verteilt mit einer konzentrierten Lösung von kohlensaurem Natron tropfenweise versetzt. Er löste sich darin leicht [2]) und *vollständig — ohne Rückstand* — auf. Die Lösung, welche neutral reagierte, stellte eine durchsichtige, schwach opalisierende Flüssigkeit dar, welche nach Entfernung von Papierfasern durch Filtration ganz klar war. Auf Zusatz von Salzsäure trübte sie sich zunächst milchig, ohne stark zu schäumen und liess nach einiger Zeit einen voluminösen, feinflockigen Niederschlag von rein weisser Farbe ausfallen, der an gefälltes Kasein erinnerte [3]). Letzterer wurde auf dem Filter gesammelt. Die durch das Doppelfilter laufende Flüssigkeit war vollkommen wasserklar. Der Niederschlag wurde zuerst mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion, dann gründlich mit Alkohol und Aether ausgewaschen und schliesslich in einer Reibschale bis zum völligen Verdunsten des Aethers verrieben und getrocknet.

Substanz A stellte nach dieser Behandlung ein feines, leichtes graues Pulver dar. Sie löste sich nicht in kaltem Wasser, sehr leicht in Natronlauge und ammoniakalischem Wasser und wurde aus dieser Lösung durch Essigsäure, auch durch Salzsäure ausgefällt. Mit Natronlauge und Kupfersulfat gab sie intensive blauviolette, mit Salpetersäure gelbe Färbung, welche durch Zusatz von Natronlauge noch intensiver wurde, mit Eisessig und konzentrierter Schwefelsäure Violettfärbung (Adamkieviczs Reaktion); sie gab auch die Millonsche Reaktion. Es ist demnach an der Eiweiss-Natur dieser Substanz

[1]) Vergleiche Lubavin, l. c.
[2]) Vergleiche Lubavin, l. c.
[3]) Vergleiche Lubavin, l. c.

nicht zu zweifeln, wofür auch ihr Gehalt an Schwefel spricht. (Eine kleine Menge der Substanz wurde in dem ausgezogenen Ende eines Glasröhrchens erhitzt, vor dessen Oeffnung ein mit Bleiessig getränktes Fliesspapier gehalten wurde. Letzteres wurde ziemlich stark gebräunt).

Die vorerwähnten Fällungen mit Essigsäure und Salzsäure lösten sich desgleichen nicht in kaltem Wasser, dagegen sehr leicht, momentan, in sehr wenig Natronlauge und gaben eine Biuret-Reaktion, die schon recht deutlich war, wenn nur eine Spur der Fällung mit Natronlauge und Kupfersulfat versetzt wurde. Sie sind phosphorhaltig.

Eine Probe von A wurde zur Untersuchung auf Phosphor mit Soda und Salpeter geschmolzen, dann mit Wasser gelöst und mit Salpetersäure und molybdänsaurem Ammoniak versetzt. Die Schmelze hatte eine etwas rotbräunliche Färbung, die auf Eisengehalt schliessen liess. Nach Zusatz der Molybdänlösung entstand ein sehr reichlicher gelber Niederschlag. Die Substanz enthält demnach *viel* Phosphor [1]).

Eine gleiche Menge von A wie zu vorigem Versuche wurde auf dem Platinblech erhitzt. Sie verbreitete einen Geruch ähnlich dem verbrennender Proteinstoffe; ihre stark sich blähende Kohle gab angefeuchtet stark saure Reaktion und war schwer verbrennlich [2]). Es blieb eine geringe Menge Asche zurück, die ebenfalls stellenweise rotbraune Färbung zeigte. Zur Ueberführung etwa vorhandener Metaphosphorsäure in Orthophosphorsäure wurde die Asche mit Soda und ein wenig Salpetersäure geglüht; der Rückstand wurde in Wasser gelöst mit Molybdänlösung geprüft. Auch hier entstand noch ein nicht unbeträchtlicher gelber Niederschlag; die Quantität desselben war jedoch erheblich geringer, als die in der vorhergehenden Probe erhaltene.

Die Menge der gefundenen Asche war bedeutend geringer, als sie nach dem Ausfall der Phosphorprobe erwartet werden durfte, vorausgesetzt, dass aller P als phosphorsaures Salz vorhanden sei.

[1]) Vergleiche Lubavin, l. c.
[2]) Vergleiche Lubavin, l. c.

Ich bestimmte nunmehr den Phosphor- und Kalkgehalt von A quantitativ.

0,2155 gr. der bei 100—105° getrockneten Substanz gaben 0,0297 pyrophosphorsaure Magnesia, daneben 0,0003 Kalk.

Diese Zahlen entsprechen folgendem Prozentgehalt an Phosphor und Kalk (der P-Gehalt auf die kalkfrei gedachte Substanz bezogen):

Phosphor	*Kalk*
3,85 %	0,13 %

Es ist demnach der Phosphorgehalt von Substanz A sehr beträchtlich höher, als dem phosphorsauren Kalk ihrer Asche entspricht.

Denn 3,85 % P würden 19,25 % Ka_3 $(PO_4)_2$ entsprechen.

Die nachgewiesene Kalkmenge aber betrug, wie oben angegeben, nur 0,13 %.

Lubavin fand in seiner Substanz A 4,6 % Phosphor, so dass mein P-Befund nicht wesentlich von dem seinen abweicht (vergleiche übrigens die Phosphorbestimmung von meiner Substanz B (gleich nach Altmann behandeltem Teil *desselben* Kasein-Dyspeptons).

Zu der vorstehenden quantitativen Analyse sei folgendes bemerkt:

Die Schmelze von A mit Soda und Salpeter zeigte eine rotbraune Färbung. Bei ihrer Auflösung blieb ein gleichfarbiger Niederschlag zurück, dessen Menge 0,00356 gr. betrug. Dieser wurde in etwas konzentrierter Salzsäure gelöst, die Lösung verdünnt, mit überschüssigem essigsauren Natron kochend vom Eisen befreit und aus dem Filtrat der Kalk durch oxalsaures Ammon gefällt. Der geringe Niederschlag wurde auf einem sogenannten «aschefreien» Filter gesammelt und stark geglüht; er wog dann nach Abzug der Filterasche 0,0003 gr. Der Eisenniederschlag enthielt eine unwägbare Menge P.

Ein kleiner Teil des nachgewiesenen Eisens stammte aus den angewandten Filtern, der Hauptteil jedoch aus der Substanz, von der ich eine kleine Menge noch auf Eisen prüfte. Ihre (rotbräunlich gefärbte) Asche gab deutlich Eisenreaktion.

und ebenso liess sich eine Spur Eisen in der Asche des benutzten Kaseins nachweisen.

Ich erhielt somit die Resultate des 4. Lubavinschen Verdauungsversuches mit dem alleinigen Unterschiede, dass, statt bei der Behandlung des Kaseindyspeptons mit kohlensaurem Natron *zwei* voneinander verschiedene Substanzen (A und B Lubavins) zu bekommen, ich *einen gegenüber Natr.-carb. einheitlichen Körper erhielt*, der *vollständig die Eigenschaften der Lubavinschen Substanz A zeigt, aber auch Schwefel und daneben etwas Eisen enthält* (letzteres wahrscheinlich als Verunreinigung).

Ist die Annahme Chittendens richtig, dass Lubavins Substanz B (welche in kohlensaurem Natron unlöslich, schwer und unvollkommen löslich in Natronlauge ist, S. aber nur Spuren von Phosphor enthält) nur *ein Gemisch von Substanz A mit Fett sei,* so würde sich aus der Benutzung des «fettfreien» Kaseins erklären, warum ich aus dem unverdauten Rest von Kasein durch kohlensaures Natron nicht einen zweiten, darin unlöslichen Körper abzutrennen vermochte, und meine Substanz demnach ein reineres Präparat als das von Lubavin dargestellte repräsentieren.

Wenn aber B ein Gemisch von Substanz A mit Fett ist, warum löste sich dann Anteil A dieser Mischung nicht in kohlensaurem Natron? Vielleicht waren die einzelnen Substanzpartikelchen mit Fett umhüllt, welches sie gegen den Angriff des kohlensauren Natrons schützte.

* * *

Schliesslich seien hier noch einige Versuche mitgeteilt, welche zur Prüfung darauf angestellt wurden, ob meine Substanz Eiweiss fällende Eigenschaften besitze. Ich löste eine geringe Menge derselben in etwa 10 Ccm. Wasser mit wenig Ammoniak, filtrierte und setzte zu dem klaren Filtrate Essigsäure in grossem Ueberschuss hinzu. Es entstand ein sehr reichlicher, flockiger Niederschlag von weisser Farbe. In dem zugehörigen klaren Filtrate erzeugte die genannte Säure

momentan keine Fällung mehr. Dasselbe wurde halbiert und zu der einen Hälfte (= a) Ovalbuminlösung, zu der andern (= b) noch Essigsäure zugesetzt. Aus *b* fiel noch eine nicht ganz unbeträchtliche Menge rein flockigen Niederschlages aus. Beim Schütteln des Reagensglases wurden grössere Flocken aufgewirbelt, die bei weiterem Schütteln in kleine, feine Flöckchen zerfielen; immer aber erschien die Flüssigkeit, in der sie schwammen, klar. In a (Flüssigkeit + Ovalbuminlösung) hatte sich ein an Menge viel reichlicherer und anders beschaffener Niederschlag abgesetzt Er war feiner, der Glaswand mehr anhaftend. Beim Schütteln erhoben sich Wolken — nicht Flocken — von der Bodenfläche des Reagensröhrchens. Während das mit Essigsäure versetzte Filtrat nach gründlichem Aufrühren des Niederschlages lauter feine, in sonst klarer Flüssigkeit suspendierte Flöckchen enthielt, wurde die ovalbuminhaltige Flüssigkeit nach dem Schütteln durchaus trübe, und diese Trübung liess sich durch das Auge nicht in deutliche diskrete Partikelchen auflösen. Der Niederschlag war dazu zu fein. Demselben war eine geringe Menge feiner Flöckchen von der Beschaffenheit der Fällung in *b* beigemengt [1]).

Aus diesem Versuche konnte mit Sicherheit geschlossen werden, dass meine Substanz A in saurer Lösung Eiweisskörper ziemlich stark ausfällt. Dies im Verein mit ihren sonstigen Eigenschaften: reichlicher P-Gehalt, weit mehr als dem phosphorsauren Kalk ihrer Asche entspricht, Leichtlöslichkeit in ammoniakalischem Wasser, kohlensaurem Natron, Natronlauge, Fällung aus der ammoniakalischen Lösung durch Essigsäure und Salzsäure, Verhalten beim Erhitzen auf dem Platinblech dürfte für die nucleinartige Natur meiner Substanz A sprechen. Sie hat die allgemeinen Eigenschaften der Nucleine und ist ausserdem wie die Nucleinsäuren im Stande, Eiweiss zu fällen.

[1]) Ein vorgängiger analoger Versuch mit derselben Substanz hatte nur ganz minime, kaum sichtbare Mengen Niederschlags ergeben. Es scheint daraus hervorzugehen, dass unter gewissen Bedingungen, die ich allerdings nicht näher präcisieren kann, die Reaktion leichter eintritt, als unter anderen.

des unverdauten Rückstandes vom Kasein wurde in etwa 500 Ccm. Wasser mit Hülfe von wenig Ammoniak zu einer gelbbräunlichen, etwas trüben, aber noch durchscheinenden Flüssigkeit gelöst, mit Essigsäure *schwach* übersäuert (entstandene Niederschläge lösten sich wieder beim Umrühren) und mit einem gleichen Volumen absoluten Alkohols versetzt. Da kein Niederschlag ausfiel, so wurde eine Probe *(a)* der Flüssigkeit mit essigsaurem Kali, eine zweite Probe *(b)* mit Salzsäure versetzt. In *b* entstand ein sehr reichlicher, weisser, flockiger Niederschlag, in *a* desgleichen eine Fällung, die an Menge geringer zu sein schien.

Ich glaubte aus dem Probeversuch mit essigsaurem Kali den Schluss ziehen zu müssen, dass in der Flüssigkeit eine Substanz in kolloider Lösung enthalten sei. Die entstandene Fällung wurde auf einem Filter gesammelt und das Filtrat, das sehr langsam abtropfte, desgleichen mit Salzsäure versetzt. Es entstand auch hier ein Niederschlag, der sich aber nicht so gut absetzte und etwas gequollen aussah.

Um die präsumptive Kolloidsubstanz aus der nach obigen Angaben behandelten Lösung von B zu eliminieren, wurde letztere mit (wenig) essigsaurem Kali versetzt. Es entstand daraufhin ein reichlicher, grobflockiger, bräunlicher Niederschlag, von dem eine wasserklare, etwas gelblich gefärbte Flüssigkeit (= Filtrat γ) abfiltrierte. Der Niederschlag wurde mit absolutem Alkohol, dann mit Aether gründlich ausgewaschen, verrieben und in vacuo getrocknet (Substanz δ). Er stellte nach dieser Behandlung ein feines, leichtes, graues Pulver dar, das der Ammon-Molybdatprobe nach viel P enthielt, sich in kaltem Wasser nicht, leicht aber in ammoniakalischem Wasser löste und aus dieser Lösung durch Essigsäure gefällt wurde. In saurer Lösung fällte er Eiweiss.

Filtrat γ wurde mit Salzsäure behandelt, zuvor aber eine Probe desselben auf eiweissfällende Eigenschaften geprüft und zu dem Behufe durch Wasser stark verdünnt, um die fällende Wirkung des Alkohols auszuschalten, mit Essigsäure an-

gesäuert, woraufhin ein weisser Niederschlag entstand, und mit Ovalbuminlösung versetzt. Letztere schien eine Fällungsvermehrung zu bewirken.

Als Kontrollversuch diente folgender: Einige Ccm. des Filtrates γ wurden zur Verhinderung der Alkoholwirkung stark mit Wasser verdünnt und dann mit Essigsäure versetzt, bis keine Ausfällung mehr statt hatte. Die von der Essigsäurefällung abfiltrierte Flüssigkeit gab weder nach Essigsäure-, noch nach Salzsäurezusatz einen Niederschlag.

Ovalbumin erzeugte in dem mit Essigsäure keine Fällung mehr gebenden Filtrate einen weissen Niederschlag von nicht unbeträchtlicher Menge.

Nach dem Zusatz von 3 bis 5 pro mille Salzsäure entstand in dem wasserklaren Filtrate γ ein überaus reichlicher und sehr feinflockiger, fast rein weisser Niederschlag. Derselbe wurde auf einem Filter gesammelt; die ablaufende Flüssigkeit war etwas gelblich gefärbt, zunächst vollkommen klar, liess aber nach einigem Stehen geringe Mengen eines weissen Niederschlages ausfallen. Sie gab weder mit Essigsäure allein, noch mit Ovalbumin in saurer Lösung eine Fällung. Fällung durch Kaliumquecksilberjodid in salzsaurer Lösung, sowie die Biuretprobe bewiesen das Vorhandensein kleiner Mengen von Eiweisskörpern in dem Filtrate.

Der mittelst Salzsäure erhaltene Niederschlag wurde mit 50 % Alkohol (Zusatz von 3 pro mille Salzsäure), Alkoh. absol. und Aether ausgewaschen, verrieben und getrocknet.

Die getrocknete Substanz, ein feines, leichtes, weisses Pulver, enthält der Ammonium-Molybdatprobe nach *viel* Phosphor. Eine der Probe auf P gleiche Menge derselben wurde auf dem Platinblech erhitzt. Sie verkohlte, verbreitete einen Geruch entfernt ähnlich dem verbrennender Proteinstoffe, ihre stark sich blähende Kohle war schwer verbrennlich. Es blieb nichts deutlich Erkennbares von Asche zurück. Diese sehr minimen, mit der Loupe zu suchenden Aschenbestandteile wurden wie in den früheren Versuchen mit Soda und etwas Salpeter geglüht; der in Wasser gelöste Rückstand gab mit Salpetersäure und molybdänsaurem Ammoniak nur noch eine

Spur von Fällung — ein Beweis, dass der allergrösste Teil der Phosphorsäure sich verflüchtigt hatte, was nur bei Abwesenheit von fixen Basen möglich ist. Auch hier sprach das auffällige Missverhältnis zwischen Aschen- und Phosphormenge nicht zu Gunsten der Chittendenschen Ansicht.

Die Prüfung einer weiteren kleinen Probe der Substanz auf eiweissfällende Eigenschaften ergab dasselbe Bild, wie ich es von Teil A geschildert habe, nur war die diesmal entstandene Eiweissfällung entschieden schwächer.

Die Substanz wurde aus ihrer Lösung in ammoniakalischem Wasser durch Essigsäure gefällt. Auch durch Salzsäurezusatz erhielt ich noch eine kleine Menge weissen flockigen Niederschlags. Diese Fällungen lösten sich in kohlensaurem Natron, momentan nach Zusatz von ganz wenig Natronlauge, gaben mit Kupfersulfat und Natronlauge schon bei Prüfung einer Spur von Niederschlag Violettfärbung. Sie sind phosphorhaltig.

Die Substanz enthielt eine Spur Eisen.

0,1916 gr. der bei 100—105° getrockneter Substanz gaben 0,0318 pyrophosphorsaure Magnesia, daneben 0.001 Kalk, der eine unwägbare Menge von Phosphor enthielt.

Diese Zahlen entsprechen folgendem Prozentgehalt an Phosphor und Kalk (der P-Gehalt auf die kalkfrei gedachte Substanz bezogen):

Phosphor	*Kalk*
4,66 %	0,52 %

Dieser Befund an P entspricht 14.73 % Orthophosphorsäure und 23,3 % phosphorsaurem Kalk, so dass also der untersuchte Körper beträchtlich mehr Phosphor enthält, als dem phosphorsauren Kalk seiner Asche entspricht.

Dieser Körper wurde mit der vorerwähnten, durch Fällung mit essigsaurem Kali erhaltenen Substanz *δ* verglichen. Die beiden Substanzen sind anscheinend chemisch nicht verschieden; wenigstens werden die durch Salzsäure ursprünglich gefällten Substanzen aus ihren Lösungen in Alkalien durch Essigsäure ausgefällt.

Der durch Salzsäure im Filtrat γ entstandene Niederschlag zeigt demnach dieselben chemischen Eigenschaften wie meine Substanz A = Substanz A von Lubavin, so dass ich berechtigt zu sein glaube, ihn auch als einen nucleinartigen Körper anzusprechen. Sowohl bei ihm, wie bei dem nach Lubavin behandelten Teil des unverdauten Rückstandes vom Kasein wurde das Vermögen, Eiweiss in saurer Lösung zu fällen, nachgewiesen. Da bis jetzt noch nichts darüber bekannt ist, dass Nucleine Eiweiss aus seiner Lösung zu fällen im Stande sind, während dies für die Nucleinsäuren nachgewiesen ist, so muss man annehmen, dass die oben beschriebenen Substanzen letzteren näher stehen, als den ersteren. Vielleicht stellen sie gar Verbindungen von Nucleinen mit Nucleinsäuren dar, vergleichbar den sauren Salzen mehrbasischer Säuren, woraus sich einerseits ihre Fällbarkeit durch Essigsäure, andererseits ihr Vermögen, Eiweiss zu fällen, ergeben würde.

Inzwischen hatte ich Gelegenheit, mein Präparat mit Nucleinsäure zu vergleichen, welche Professor Altmann früher selbst aus Hefe dargestellt hatte.

Zu diesem Behufe wurde zunächst die Altmannsche Nucleinsäure in ammoniakalischem Wasser gelöst und mit Essigsäure im Ueberschuss versetzt. Die Flüssigkeit blieb anfänglich klar und setzte erst nach längerem Stehen eine ganz geringe Menge flockigen weissen Niederschlages ab. Das Filtrat von demselben gab aber mit frisch bereiteter Ovalbuminlösung eine reichliche Fällung.

Ich prüfte darauf das Verhalten der Nucleinsäure zu Essigsäure in *grossem* Ueberschuss. Die schon stärker übersäuerte Lösung des Altmannschen Präparates wurde in zwei Hälften geteilt, von denen der einen *(a)* noch reichlich Essigsäure zugegeben, der anderen *(b)* kein Zusatz mehr gemacht wurde. Sowohl in *a* als in *b* enstand eine geringe Menge flockigen Niederschlags, in *a* anscheinend etwas mehr als in *b*.

Als ich gleiche Mengen von Altmannscher Nucleinsäure und meiner aus dem Filtrate γ nach Salzsäure-Zusatz gewonnenen Substanz nach vorheriger Lösung derselben in ammoniakalischem Wasser mit Essigsäure in geringem Ueber-

schuss versetzte, fiel aus der Lösung der Altmannschen Nucleinsäure eine ganz geringe Menge Niederschlages aus, während mein Präparat ziemlich reichlich gefällt wurde. Die abfiltrierten Flüssigkeiten wurden je halbiert und dann mit wenigen Tropfen Ovalbuminlösung, resp. Essigsäure versetzt. In der Lösung des Altmannschen Präparates, die ich fortan A nennen will, entstand nach Zusatz von wenig Essigsäure keine Trübung; sie blieb auch klar nach weiterer Behandlung mit Essigsäure, während bei dem entsprechenden Versuch mit meiner Substanz noch eine geringe Menge weissen, flockigen Niederschlages gewonnen wurde. Einige Tropfen Ovalbuminlösung erzeugten in beiden Versuchsflüssigkeiten schon eine Trübung, die aber bedeutend intensiver in A war. Nach Zusatz von mehr (schwach essigsaurer) Ovalbuminlösung fiel aus A ein sehr reichlicher Niederschlag aus; mein Präparat wies dagegen eine erheblich schwächere Fällung auf.

Die Altmannsche aus Hefe dargestellte Nucleinsäure zeigt demnach gegenüber Essigsäure und Ovalbumin ein anderes Verhalten als meine Substanz.

Da die Möglichkeit vorlag, dass meine Substanz ein Nuclein, resp. eine Mischung oder Verbindung von Nuclein und Nucleinsäure darstelle, so behandelte ich dieselbe mit starken Alkalien, durch welche ich eine Zersetzung unter Freiwerden von Nucleinsäure zu erzielen hoffte und prüfte dann abermals auf eiweissfällende Eigenschaften. Ich schloss diesen Versuch an eine quantitative Bestimmung der durch Ovalbumin + Essigsäure und durch Essigsäure allein erhaltenen Niederschläge an.

Diese quantitative Bestimmung wurde in folgender Weise ausgeführt:

Ich löste 0.49 gr. meiner Substanz (Salzsäure-Fällung aus Filtrat γ) in ammoniakalischem Wasser, versetzte mit Essigsäure bis zur stark sauren Reaktion und füllte mit Wasser bis auf 40 Ccm auf. Es fiel ein reichlicher, weisser, flockiger Niederschlag aus, von welchem abfiltriert wurde. Das klare Filtrat diente zu den weiter unten beschriebenen quantitativen Bestimmungen, während die Hauptmasse des Niederschlages

mit überschüssiger Natronlauge behandelt wurde. Einen kleinen Teil desselben löste ich zur Prüfung auf P mit einem Tropfen Ammoniak und versetzte mit ammoniakalischer Magnesialösung, worauf hin ein sehr reichlicher weisser Niederschlag ausfiel, der mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen wurde. Weder mikroskopisch noch mit neutraler Silbernitratlösung war phosphorsaure Ammoniak-Magnesia nachzuweisen. Der Niederschlag gab Millonsche Reaktion. Es ist zu vermuten, dass derselbe eine Verbindung von Eiweiss mit Magnesia darstellt (vergleiche die früheren analogen Versuche mit Kasein). Ich konnte leider aus Mangel an Zeit keine Untersuchungen über die Natur dieses merkwürdigen Niederschlages anstellen.

Der mit Natronlauge behandelte Anteil der Essigsäure-Fällung wurde sowohl nach kürzerer, als auch nach längerer Einwirkung des Alkalis noch mit Essigsäure *schwach* gefällt. (Die angewandte Natronlauge war frei von Kieselsäure.) Die Fällung schien nach Ovalbuminzusatz etwas reichlicher zu werden.

Dieser Befund erschwert die Deutung der chemischen Natur meiner Substanz, widerspricht aber nicht absolut der Auffassung, dass dieselbe ein Nuclein sei. Denn vorhandenes Nuclein könnte durch das Alkali wohl zersetzt worden sein, aber die freigewordene Nucleinsäure sich unter Einwirkung der Essigsäure wieder mit Eiweiss zu Nuclein teilweise verbunden haben. Dass die untersuchte Substanz im Gegensatz zu allen meinen übrigen Präparaten, welche ich zum Teil in gleicher Weise hergestellt hatte, schwer zersetzlich sei, ist nicht wohl anzunehmen.

Zur quantitativen Bestimmung der Niederschläge mit Ovalbumin und Essigsäure wurde das oben erwähnte Filtrat zu gleichen Teilen (je 10 Ccm.) in vier kleine Bechergläser gegeben, von denen 1 und 2 zunächst mit je 10 Ccm. einer schwach essigsauren Ovalbuminlösung, dann mit gleichen Mengen Essigsäure, 3 und 4 nur mit Essigsäure in genau gleichen Mengen wie 1 und 2 versetzt wurden. (Die angewandte Ovalbuminlösung gab mit Essigsäure keine Fällung mehr.)

In allen vier Bechergläsern hatte sich nach einiger Zeit ein reichlicher Niederschlag abgesetzt, dessen Menge jedoch in den ovalbuminhaltigen Proben erheblich reichlicher war. Die Niederschläge erschienen in 3 und 4 pulverig, in 1 und 2 mehr flockig. Sie wurden auf gewogenen Filtern gesammelt (die abtropfende Flüssigkeit gab mit Essigsäure keine Fällung mehr), ausgewaschen bis keine saure Reaktion mehr nachzuweisen war, bei 100—105° bis zu konstantem Gewichte getrocknet und gewogen.

Ich erhielt folgende Werte:

Der Niederschlag in	1	(Ovalb.	+	Essigs.)	wog	0,0732	gr.
»	«	»	2	»	»	»	»	0,0639	»
»	»	»	3	(Essigsäure	allein)	»	0,0307	»
»	»	»	4	»	»	»	0,0328	»

Die Ovalbumin-Essigsäure-Fällung betrug demnach gut das Doppelte von dem mit Essigsäure allein erhaltenen Niederschlag. Die Gewichtsdifferenz der Niederschläge in 1 und 2 einerseits und 3 und 4 andererseits findet ihre Erklärung darin, dass sich in allen vier Filtraten nach Beendigung des Auswaschens eine sehr geringe Menge eines flockigen Niederschlags ausgeschieden hatte, den ich vernachlässigt habe, da er in allen vier Fällen annähernd gleich viel zu betragen schien und auf das eigentliche Resultat keinen Einfluss haben konnte.

Um dem Einwand zu begegnen, das Ovalbumin könne mit der Essigsäurefällung mitgerissen worden sein, wurde ein Parallelversuch mit Eieralbuminat gemacht. Das mit Ammoniak versetzte Albuminat quoll auf und löste sich nur langsam, aber dann vollständig auf. Nach Essigsäurezusatz bis zur stark sauren Reaktion fiel alles Albuminat aus, so dass der Versuch in dieser Form nicht gemacht werden konnte. Ich stellte mir daher eine neutrale bis ganz schwach saure Lösung her; aber auch diese liess das Albuminat ausfallen. Es wurde demnach der entstandene Niederschlag wieder mit möglichst wenig Ammoniak gelöst, die Lösung filtriert und in folgender Weise verfahren:

In Bechergläschen 1 und 2 wurden je 10 Ccm. Ovalbuminlösung, die mit Essigsäure keine Fällung mehr gab, in 3 und 4 statt der Ovalbuminlösung ebensoviel Wasser, und in alle vier Gläser gleiche Mengen Essigsäure gegeben und dann erst je 10 Ccm. der alkalisch reagierenden Albuminatlösung unter gutem Umschütteln hinzugefügt. Auf diese Weise wurde die Umwandlung des Ovalbumins in Alkalialbuminat durch das Ammoniak der zugesetzten Albuminatlösung verhindert. Sofort nach Zusatz von Albuminat entstand in allen vier Proben eine Trübung und bald fielen anscheinend gleiche Mengen von Niederschlag aus. Dieselben wurden auf gewogenen Filtern ausgewaschen, bis das Filtrat, das keinen Niederschlag ausschied und auch mit Essigsäure keine Fällung mehr gab, nicht mehr sauer reagierte. Die Wägung der bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Niederschläge ergab:

Der Niederschlag	in	1	wog	0,0200	gr.
»	»	2	»	0,0199	»
»	»	3	»	0,0189	»
»	»	4	»	0,0193	»

Es geht also aus diesem Versuche hervor, dass das Ovalbumin nicht mit der Essigsäurefällung niedergerissen wird, und aus dem Vergleich dieser Resultate mit den Ergebnissen des vorigen Versuches erhellt, dass die Substanz aus Kasein thatsächlich eiweissfällende Eigenschaften besitzt, welche dem Albuminat nicht zukommen.

Vierte Versuchsreihe.

Um einen kleinen Beitrag zur Frage der Identität des Kaseins mit aus anderen Eiweisskörpern dargestellten Albuminaten zu liefern, stellte ich einen Verdauungs-Parallelversuch zwischen Kasein und Eieralbuminat an. Als Vergleichssubstanz schien mir letzteres sehr geeignet, da es dem Kasein in seinen Eigenschaften so ähnlich ist, dass man seinerzeit die beiden Eiweisskörper für identisch gehalten hat — eine Identität, welche durch Hammarstens Untersuchungen über

das Verhalten derselben gegenüber Lab mehr als zweifelhaft geworden ist.[1])

Zur Darstellung des Albuminates wurde das Eiweiss von vier Hühnereiern mit konzentrierter Kalilauge versetzt, die entstandene Gallerte in kleinere Stücke zerschnitten, in 1—1½ Liter warmen Wassers gelöst und das Albuminat aus der Lösung sofort nach dem Erkalten durch Essigsäure ausgefällt. Es bildete einen reichlichen, weissen, feinflockigen Niederschlag. Derselbe wurde ausgewaschen, mit Natronlauge in viel Wasser gelöst und sofort wieder mit Essigsäure gefällt — eine Wiederholungsprozedur, die mir ein möglichst reines Albuminat garantieren sollte.

Der Zusatz von Essigsäure zu der Albuminatlösung erforderte grössere Vorsicht als bei der gleichen Behandlung des Kaseins vonnöten war. Denn ein Ueberschuss der Säure löste den Niederschlag wieder, und man wurde nicht wie beim Kasein auf den Moment reichlicher Ausfällung augenscheinlich hingewiesen: Während aus der Lösung des letzteren grössere Flocken ausfielen und sich bald unter einer klaren Flüssigkeit ansammelten, wurde die Albuminatflüssigkeit milchig trübe und blieb trüb, auch nachdem sich nach langem Abstehen ein sehr feinflockiger, weisser Niederschlag abgesetzt hatte. Erst auf Zusatz einer konzentrierten Kochsalzlösung klärte sich die Flüssigkeit unter Vermehrung des Niederschlages völlig auf, und es erfolgte eine raschere Senkung desselben.

Um möglichst analoge Verhältnisse mit der Kaseinbehandlung zu schaffen, sollte das Albuminat, nachdem es durch Auswaschen mit Wasser vom Kochsalz befreit, mit Alkohol und Aether ausgewaschen, in einer Reibschale zerrieben und getrocknet werden. Dabei ergab sich folgendes:

[1]) Lubavin hat in seiner Arbeit über die künstliche Pepsin-Verdauung des Kaseins einen Parallelversuch mit (aus Ascites-Flüssigkeit durch Fällung mit Alkohol und Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether gewonnenem) Serumalbumin eingeschaltet. Gegen denselben dürfte eingewandt werden können, dass Lubavin als Vergleichssubstanz einen Eiweisskörper wählte, der durch die gedachte Fällung mit Alkohol gerinnt und in diesem geronnenen Zustande in Salzsäure schwerer löslich ist, als das Kasein.

Das Albuminat ging unter Einfluss der Wasserbehandlung in eine kolloide Lösung über, die sich auf dem Filter nicht mit Alkohol auswaschen liess. (In 2 × 24 Stunden waren kaum mehr als 100—150 Ccm. Flüssigkeit abgetropft.) Der Niederschlag, dessen Menge vermindert erschien, wurde demnach in ein Becherglas gebracht und mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols versetzt, woraufhin sich allmählich eine lockere Schicht feiner Flocken absetzte. Die darüber befindliche Flüssigkeit aber war (nach sechzehnstündigem Abstehen) noch ganz trüb. Sie klärte sich aber völlig nach Zusatz einer konzentrierten alkoholischen Lösung von essigsaurem Kali unter Vermehrung des Niederschlages, der sich rasch senkte. Das Filtrat lief nunmehr wasserklar und schnell ab, und der Niederschlag konnte in vorgesetzter Weise und zugleich zur Eliminierung des Kaliumacetats mit absolutem Alkohol ausgewaschen werden.

Es verhielt sich demnach das Albuminat ähnlich dem Glykogen, das in aschefreiem Zustande sich mit Alkohol erst nach Zusatz einer Salzlösung ausfällen lässt.

Interessant ist das Verhalten unseres Eieralbuminates in Hinsicht auf die Harnackschen Arbeiten[1]); es dürfte eine Stütze für die Werigosche Annahme liefern, dass Harnacks «aschefreies Eieralbumin» in der That Albuminat gewesen ist.

Ich prüfte nebenbei die Löslichkeitsverhältnisse des Albuminates in Wasser. Der getrocknete Niederschlag wurde längere Zeit mit Wasser geschüttelt; dann wurde vom Ungelösten abfiltriert und das Filtrat zur Prüfung auf etwa gelöstes Albuminat mit einer Kochsalzlösung versetzt und erwärmt. Es fielen daraufhin geringe Mengen einer weissen Substanz aus, welche nach Zusatz von Essigsäure schon in der Kälte und noch deutlicher beim Erwärmen eine flockige Beschaffenheit zeigte. Ein *Teil* des Albuminates hatte sich demnach in Wasser gelöst.

[1]) Erich Harnack: Ueber die Darstellung und die Eigenschaften aschefreien Albumins. Bericht der chemischen Gesellschaft 1889, pag. 3040 und: Weitere Studien über das aschefreie Eieralbumin. Bericht der chemischen Gesellschaft 1892, pag. 204.

Den Verdauungs-Parallelversuch mit Kasein und Eieralbuminat stellte ich in folgender Weise an:

6,57 gr. des trockenen Albuminates wurden — ebenso wie die gleiche Menge Kasein — in circa 3/4 Liter Wasser suspendiert und mit Hilfe von etwas 2 % Natronlauge gelöst.

Das Albuminat quoll in der Natronlauge auf und löste sich erst in der Wärme zu einer gelblichen, etwas trüben, aber nicht undurchsichtigen Flüssigkeit, die alkalisch reagierte. Die Kaseinlösung, die ohne Aufquellen in der Kälte erfolgte, stellte eine klare, durchsichtige, ein wenig gelbliche Flüssigkeit dar, deren Reaktion neutral war. Die filtrierte alkalisch reagierende Albuminatlösung wurde nach zuvoriger Neutralisation mit Salzsäure, die neutrale Kaseinlösung sofort mit einer filtrierten Pepsinlösung von 1,5 : 25 versetzt, worauf hin weder eine Veränderung in dem Aussehen der Flüssigkeiten noch ein Niederschlag auftrat.

Ich fällte sodann mit Essigsäure aus: Aus der Kaseinlösung schieden sich bald weisse, ziemlich feine Flocken ab, über denen eine klare gelbgrünliche Flüssigkeit stand die Albuminatlösung, die auch mehr Essigsäure zu brauchen schien, erfuhr nur sehr allmählich eine unvollkommene Ausfällung eines sehr feinflockigen Niederschlages. Zusatz von Kochsalz in 5 % Lösung beschleunigte und vervollständigte die Fällung im Laufe einiger Zeit.

Um möglichst zu verhüten, dass das Albuminat wieder eine kolloide Lösung eingehe, wurde der Niederschlag mit 1 % Kochsalzlösung, statt nur mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Der Kaseinniederschlag wurde analog behandelt. Letzterer präsentierte sich nach dem Auswaschen als eine schmutzig- (gelbbräunlich) weisse Masse, welche mit Wasser auf 200 Ccm. Flüssigkeit fein verrieben und mit 2,7 % Salzsäure zunächst bis zur vollständigen Lösung, dann bis zum Gehalt von 0,32 % HCl. versetzt wurde.

Der Albuminatniederschlag war fast rein weiss: das Auswaschen desselben ging ungleich langsamer vor sich, als beim Kasein. Er wurde in gleicher Weise wie letzteres behandelt.

Das Kasein löste sich mittelst Salzsäure zu einer gelb-

grünlichen, zunächst etwas trüben, aber nach Zusatz von weiteren 50 Ccm. Wasser durchsichtig klaren Flüssigkeit.

Das Albuminat dagegen löste sich nicht auf, sondern quoll nur äusserst stark auf. Zusatz von Wasser (in oben angegebener Menge) änderte nichts an der Beschaffenheit desselben.

Die beiden Präparate wurden im Brütofen erwärmt (konstante Temperatur von 40°).

Am andern Morgen fand ich das Albuminat vollständig gelöst. In *beiden* Flüssigkeiten war noch kein Niederschlag aufgetreten, ebensowenig nach weiterem 24stündigen Erwärmen. Ich prüfte daher je eine Probe derselben auf ihre Reaktion und auf die Wirksamkeit des darin enthaltenen Pepsins. Congopapier gab einen deutlichen Ueberschuss an Säure an; Fibrinflocken aber wurden durch die Flüssigkeiten während 30stündigen Erwärmens nicht verdaut. Da hiernach in den Lösungen anscheinend kein Pepsin enthalten war (es schien bei der Fällung mit Essigsäure diesmal nicht mit niedergerissen zu sein) so wurden je 25 Ccm. eines auf seine Wirksamkeit geprüften, stärkeren Verdauungssaftes (6 gr. Pepsin zu 60 Wasser + 0,3 % HCl.) sowohl zu der Kasein-, als auch zu der Albuminatflüssigkeit zugesetzt.

Der erneute Verdauungsversuch ergab folgendes:

Am anderen Morgen wies die Kaseinlösung einen reichlichen, flockigen, lockeren, weissgrauen Niederschlag auf; in der Albuminatlösung hatte sich eine Bodenschicht von bräunlicher pulveriger Substanz angesammelt. Der Niederschlag war in der Kaseinlösung durchsichtig, in der Albuminatflüssigkeit dagegen undurchsichtig.

Nach weiterer 24stündiger Verdauung schien sich die Menge des Niederschlages in der Kaseinlösung etwas vermindert zu haben. Sie nahm auch noch während der folgenden Tage ein wenig ab; dann aber blieb das Volumen des Unverdauten konstant (etwa ¼ des Volumens der ganzen Masse betragend) bis zum Ende des Versuches, der mehrere Wochen lang, Tag und Nacht bei einer ständigen Temperatur von 40° fortgesetzt wurde. (Von Zeit zu Zeit überzeugte ich mich von dem Nochvorhandensein wirksamen Pepsins). Auch die Menge des

bräunlichen Pulvers in der Albuminatlösung wurde nach und nach geringer und gleichzeitig die aufgeschüttelte Flüssigkeit weniger undurchsichtig, weniger trüb, ohne jedoch den Durchsichtigkeitsgrad der Kaseinflüssigkeit zu erreichen. Nach etwa 4—5 × 24stündiger Verdauung war keine Abnahme des Niederschlags mehr zu konstatieren.

In den Lehrbüchern der physiologischen Chemie findet sich die Angabe, dass bei der Albuminatverdauung kein Niederschlag mehr entstehe. Um die Richtigkeit derselben und speciell die Einwirkung von mehr Pepsinsalzsäure zu prüfen, wurde eine neue Probe getrockneten, in Natronlauge gelösten Eieralbuminates mit Essigsäure gefällt (da der feuchte Niederschlag sich besser in Salzsäure löst, als die trockene Substanz), der Niederschlag ausgewaschen, in 80 Ccm. Wasser verteilt mit 10 Ccm. einer 2,7 % Salzsäure gelöst und die vollständig klare Flüssigkeit zu gleichen Mengen mit verschiedenen Mengen einer Pepsinlösung von 5 : 200 (der ich, um den Säuregehalt der Mischung nicht zu verändern, 2 Ccm. 2.7 % Salzsäure hinzugefügt hatte) und von 0,3 % Salzsäure nach folgendem Schema versetzt und dann in den Brütofen gebracht:

	Albuminatlösung		*Pepsinlösung*		*Salzsäure*
I.	10 Ccm.	+	0,5 Ccm.	+	19,5 Ccm.
II.	10 »	+	1 »	+	19 »
III.	10 »	+	2 »	+	18 »
IV.	10 »	+	4 »	+	16 »
V.	10 »	+	8 »	+	12 »
VI.	10 »	+	16 »	+	4 »
VII.	10 »	+	20 »	+	0 »

Am anderen Morgen wiesen die ursprünglich völlig klaren Flüssigkeiten flockige, weissliche Niederschläge auf, deren Mengenverhältnisse keine auffälligen Unterschiede darboten. Im Laufe einer länger fortgesetzten Verdauung war keine Verminderung der in allen sieben Proben entstandenen Niederschläge nachzuweisen.

Da die Möglichkeit vorlag, dass letztere von den keratinhaltigen Eihäutchen herrührten, so wusch ich den bei dem

Hauptversuch mit Eieralbuminat gewonnenen Niederschlag aus, bis keine Biuretreaktion mehr nachzuweisen war und versetzte eine Probe des Niederschlags zur Prüfung auf Schwefel mit alkalischer Bleilösung. Er gab beim Kochen keine S-Reaktion. Ebensowenig der unverdaute Rest vom Kasein, der vergleichsweise analog behandelt worden war. Aus den Eihäutchen konnten demnach die Niederschläge nicht stammen.

Einen Anhaltspunkt für die Entstehungsweise derselben fand ich in Meissners klassischen Studien über die Parapeptone [1]). Letzterer kam unter anderem zu dem Resultate, dass «das bei gewöhnlicher Digestion mit Magensaft entstehende Parapepton durch fortgesetzte Einwirkung einer sehr pepsinreichen Verdauungsflüssigkeit nach und nach mehr an Löslichkeit verliert, nämlich nach und nach für verdünnte Säuren sogar unlöslich wird, so dass endlich ein Moment eintreten kann, in welchem das Parapepton auch nicht mehr für den gewöhnlich angewendeten 0,2 % HCl. enthaltenden Magensaft löslich ist und sich daher aus seiner Lösung allmählich ausscheidet» (als Dyspepton Meissners). «Alle Eiweisskörper» — so spricht sich Meissner weiter aus — «können, sofern sie Parapepton liefern, auch Dyspepton liefern, aber bei manchen Eiweisskörpern, wie namentlich beim tierischen Eiweiss, findet die Zunahme der Schwerlöslichkeit des Parapeptons nur sehr langsam statt, so dass es gewöhnlich nicht zur Dyspeptonbildung kommt».

In meinen Versuchen hatte ich mich einer sehr pepsinreichen Verdauungsflüssigkeit bedient und auf diesen Pepsinreichtum und eine raschere Zunahme der Schwerlöslichkeit des Albuminat-Parapeptons möchte ich demnach wohl die Entstehung der beschriebenen Niederschläge zurückzuführen haben.

Um hierüber sichere Aufklärung zu erhalten, stellte ich einige weitere Versuche an. Ich prüfte zunächst das Verhalten des Eieralbuminats gegenüber pepsinärmerem künstlichem

[1]) Henle, Keferstein und Meissner, Jahresberichte über d. Fortschr. der Anatomie und Physiologie 1862, pag. 261.

Magensaft und stellte mir zu dem Behufe wieder eine Lösung von Albuminat mit Natronlauge her (die sehr langsam zustande kam), filtrierte und suchte mit Essigsäure zu fällen. Da sich aber nach Zusatz der Säure bis zur starksauren Reaktion die Lösung nur trübte und auch nach 24stündigem Abstehen noch keinen Niederschlag abgesetzt hatte, so wurden derselben reichliche Mengen Kochsalz hinzugefügt, worauf hin eine vollständige Ausfällung erfolgte. Der im Waschwasser sich lösende Niederschlag fiel aber in dem salzhaltigen Filtrate wieder aus, so dass eine Trennung auf diesem Wege nicht möglich war. Ich dekantierte und versetzte den in Wasser verteilten Niederschlag mit 0,3 % Salzsäure. Während sich das Albuminat beim vorhergehenden Versuche in der Säure vollständig löste, quoll es diesmal auf und war auch nach 6stündigem Aufenthalte im Brütofen noch ganz ungelöst. Da mir der Salzgehalt des Niederschlages die Ursache seiner Schwerlöslichkeit zu sein schien, so verdünnte ich mit Wasser (von 96 bis auf 200 Ccm.) und erwärmte abermals. Aber auch nach weiteren 6 Stunden hatte sich das Albuminat nicht gelöst. Ich filtrierte demzufolge die Flüssigkeit ab und behandelte den Niederschlag wieder mit Salzsäure (0,2 % Salzsäure). Er löste sich jetzt in der Wärme, und das Filtrat wurde nach wiederholtem Filtrieren so weit klar, dass es nur noch eine schwache bläuliche Opalescenz besass.

Zu den nach folgendem Schema hergestellten Proben benutzte ich eine 0,3 % HCl. haltende Pepsinlösung von 1 : 2000.

	Albuminatlösung		*Pepsin HCl.-Lösung mit 0,3 % HCl.*		*Salzs.-Lösung 0,3 %*
I.	10 Ccm.	+	20 Ccm.	+	0 Ccm.
II.	10 »	+	16 »	+	4 »
III.	10 »	+	8 »	+	12 »
IV.	10 »	+	4 »	+	16 »
V.	10 »	+	2 »	+	18 »
VI.	10 »	+	1 »	+	19 »
VII.	10 »	+	0,5 »	+	19,5 »

(20 Ccm. meiner Lösung entspr. 0,01 gr. käufl. Pepsin
0,5 » » » » 0,00025 » » »)

Die klaren Flüssigkeiten wurden im Brütofen bei 40° erwärmt.

Diese Proben blieben zunächst fast absolut klar und setzten erst nach mehrtägigem Stehen im Brütofen eine kaum wahrnehmbare Menge eines pulverigen Niederschlags ab, dessen Menge gegen diejenige, welche in den früheren Versuchen entstanden war, bei direktem Vergleiche fast ganz verschwand. Um die Wirkung einer grösseren Pepsinmenge noch deutlicher zu sehen, setzte ich zu Nr. I der obigen Probe noch 19,6 Ccm. einer Pepsinlösung von 5 : 200 hinzu, so dass nunmehr etwa dasselbe Verhältnis wie in Probe II der ersten Versuchsreihe gegeben war. In der That bildete sich auch hier nach einigen Stunden ein deutlicher Niederschlag aus, dessen Menge etwa dem in vorerwähnter Probe II entstandenen gleich war.

Es spielt die Menge des im Magensaft enthaltenen Pepsins demnach eine Rolle bei der Entstehung von Niederschlägen bei der Albuminatverdauung.

* * *

Ehe ich die wesentlichsten Resultate meiner Untersuchungen über die peptische Verdauung des Kaseins in kurzer Uebersicht zusammenfasse, möchte ich nachdrücklich betonen, dass ich in allen meinen Versuchen das Kasein vollständig durch Salzsäure gelöst in den Brütofen gebracht habe. Ich hatte somit die Sicherheit, einen Niederschlag aus einer völligen Lösung zu erhalten und verhindern zu können, dass ungelöste Teile von Kasein die durch den Verdauungssaft gebildeten Niederschläge umhüllten und der weiteren Einwirkung der Pepsinsalzsäure unzugängig machten.

Chittenden dagegen gibt bei dem einen Versuche an, dass der Rückstand noch Teile von gequollenem Kasein enthielt [1]),

[1]) Chittenden, l. c. (Digestion A) « At the end of this time » (d. h. nach 48stündigem Aufenthalt im Brütofen) « there was still a comparatively large mass of gelatinous matter undissolved, *composed in part, no doubt, of swollen casein.* »

und in den anderen Versuchen erwähnt er auch nichts von einer vorgängigen vollständigen Lösung des Kaseins in der Verdauungsflüssigkeit. Daraus lässt sich die Möglichkeit ableiten, dass sein Dyspepton ausser dem von Lubavin und mir erhaltenen Körper noch andere, vielleicht dem Antialbumid ähnliche Verdauungsprodukte des Kaseins enthielt: jedenfalls war dasselbe keine so einheitliche Substanz, wie die von mir gewonnene.

Meine Untersuchungen über die Magenverdauung des Kaseins ergaben im wesentlichen folgendes:

1. Es wurde aus dem Kasein ein phosphorhaltiger Körper abgeschieden, der seinen Phosphor nicht lediglich in der Form von phosphorsaurem Kalk, sondern vorwiegend in organischer Verbindung enthält. Meine Arbeiten bestätigen somit den Befund von Lubavin. Wieso Chittenden zu einem andern Resultate kommen konnte, darüber gaben mir meine Untersuchungen keinen sicheren Aufschluss.

2. Die bei mehrfachen Verdauungsversuchen gewonnenen und verschiedentlich behandelten Körper wiesen ausser ihrem hohen Phosphorgehalt noch eine Reihe von Eigenschaften auf, welche den Nucleinen, beziehentlich ihren Spaltungsprodukten, den Nucleinsäuren zukommen.

3. Die quantitative Analyse zweier meiner Substanzen ergab Phosphorwerte (3,85 % und 4,66 %), welche mehr für Nucleine, als für Nucleinsäuren sprechen.

4. In einem Punkte weichen die Resultate meiner Untersuchungen von den Lubavinschen Befunden ab (vergleiche meine dritte Versuchsreihe): Lubavin fand das Kaseindyspepton aus *zwei* verschiedenen, durch kohlensaures Natron voneinander abtrennbaren Substanzen bestehend, von denen die eine, *A* — der in kohlensaurem Natron lösliche Teil, der sich auch in Natronlauge mit Leichtigkeit löst — viel Phosphor und keinen Schwefel enthält, die andere, *B*, in kohlensaurem Natron unlöslich, schwer und unvollkommen löslich in Natronlauge ist, unbedeutende Spuren von Phosphor, Schwefel und offenbar eine Beimischung von Fett enthält. Ich erhielt

bei der Behandlung mit Natr.-carb. *einen einzigen Körper*, welcher völlig die Eigenschaften der Lubavinschen Substanz A zeigt, aber ausserdem Schwefel enthält. Meine Untersuchungen führten demnach zu einheitlicheren Ergebnissen, als Lubavin sie gewann.

* * *

Als ich meine Versuche schon beendet hatte, ging mir ein Bericht über Kossels neuste Arbeiten über die Nucleinsäure zu [1]). Es musste mich in hohem Grade interessieren, dass genannter Autor durch eine Reihe von Versuchen, denen weitere folgen sollen, zu dem Schlusse gekommen ist,

> dass die lebende Zelle und speziell der Organismus der Leucocyten in der Nucleinsäure eine Waffe besitzt für den Kampf gegen Mikroorganismen und ihre Produkte, da die kräftige Affinität derselben zum Eiweiss bewirkt, dass organisierte Teile, welche mit dieser Säure in Berührung kommen, sofort getötet werden.

Besagte Thatsachen würden nach Kossel in gewisser Hinsicht die Wirkung der Phagocyten und die Vernichtung von Toxalbuminen im tierischen Körper erklären.

Werden die Schlüsse Kossels durch seine weiteren angekündigten Versuche bestätigt, so liegt die Annahme nahe, dass die durch die Magenverdauung aus dem Kasein abgespaltene Nucleinsäure die Wirkung des Milchzuckers der Milch unterstützt, von welchem neuerdings Winternitz [2]) nachgewiesen hat, dass er fäulnishemmende Eigenschaften besitzt.

* * *

Die vorliegenden Untersuchungen sind, wie eingangs erwähnt, im Laboratorium von Herrn Professor Drechsel in

---

[1]) Du Bois-Reymond, Archiv. f. Physiologie 1892. (Verh. d. physiol. Gesellschaft zu Berlin. Sitzung am 14. Oktober 1892.)

[2]) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chemie, XVI. Bd., 6. Heft, 1892. pag. 460.

Bern ausgeführt worden. Ihm verdanke ich die praktische Einführung in das Gebiet der physiologischen Chemie, für das er mir ein reges Interesse zu erwecken wusste; seines erfahrenen Rates und seiner wohlwollenden Unterstützung werde ich immer in aufrichtiger Dankbarkeit gedenken.